

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

LE VIRUS FIXE NE PASSE PAS DANS LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL AU COURS DU TRAITEMENT ANTIRABIQUE

par P. REMLINGER et J. BAILLY.

Le virus fixe est-il susceptible de passer dans le système nerveux central au cours du traitement antirabique ? La question, récemment soulevée, présente un grand intérêt à la fois scientifique et pratique. Si, au cours de la cure pastorienne ou aussitôt après elle, le virus passe dans l'encéphale, que devient la rage dite de laboratoire ou, du moins, comment peut-on faire la preuve de son existence ? Comment distinguer de la rage à virus fixe les paralysies du traitement et élucider la nature des accidents ? Que prouverait en effet pour l'étiologie de ces cas le fait de trouver à l'autopsie du virus fixe dans le cerveau si ce même virus était susceptible de se rencontrer chez toutes les personnes ou, tout au moins, chez un grand nombre de personnes soumises aux injections ?... Voilà pour le côté scientifique ! Si les sujets qui suivent le traitement antirabique ont du virus dans le système nerveux central, on ne conçoit guère qu'ils n'en aient pas également dans la salive et on comprend, sans qu'il soit nécessaire d'insister et d'agiter l'épouvantail de la contagion par la vaisselle, les baisers, les

rapports sexuels, etc..., les conséquences à tirer du fait... Voilà pour le côté pratique! Bien qu'il soit assez émouvant pour une personne qui suit le traitement antirabique de savoir qu'elle recèle du virus fixe dans le cerveau et dans la moelle, nous ne ferons que signaler le point de vue moral.

Ce sont ces considérations qui nous ont incités à entreprendre quelques expériences pour nous faire une idée personnelle sur cette importante question.

*
* *

La présence du virus fixe dans le cerveau des personnes qui suivent le traitement antirabique a été décelée pour la première fois par M. Quast (1). A l'Institut antirabique de Breslau, au cours d'un traitement par la méthode de Philipps, un jeune homme succombe à une méningite tuberculeuse sans avoir présenté de signes de rage furieuse ou paralytique. Le diagnostic est vérifié à l'autopsie. Le bacille de Koch est trouvé dans les lésions. Par curiosité il est prélevé un fragment de bulbe qui, après émulsion, est inoculé à des lapins. Ceux-ci succombent en sept jours à une rage paralytique typique et la maladie passe ensuite classiquement de lapin à lapin. La tuberculose avait-elle créé dans le bulbe une sorte de *locus minoris resistenciæ*? Non, dit M. Quast, car des expériences faites à Breslau sur des chiens traités par cette même méthode de Philipps ont montré que ces animaux avaient, eux aussi, leur cure terminée, du virus fixe dans le cerveau. Il est toutefois nécessaire, pour réussir, d'inoculer des émulsions épaisses. Les expériences de M. Quast n'ont pas été confirmées à Vienne par M. Schweinburg (2). Après avoir traité des lapins par la méthode de Högyes, il a obtenu avec leurs cerveaux des résultats négatifs. M. Kraus (3) ayant émis l'opinion que la différence des animaux employés (chiens et lapins) pouvait expliquer l'opposition des résultats, nous avons fait porter une

(1) QUAST, Contribution à l'étude du sort du virus fixe introduit dans l'organisme humain au cours des vaccinations antirabiques. *Central. f. Bakt.*, 97, I, 1923, p. 53.

(2) SCHWEINBURG et KRAUS, GERLACH et SCHWEINBURG, Lyssa bei Mensch und Tier. Chez Urban et Schwarzenberg, Berlin et Vienne, 1926, p. 384-386.

(3) KRAUS. *Ibid.*

première série d'expériences à la fois sur des lapins, des cobayes, des chats, des chiens et sur deux procédés de vaccination.

EXPÉRIENCE I. — *Vaccination de chats, de lapins et de cobayes par la méthode de Calmette. Absence de virus fixe dans le cerveau.*

Du 8 au 19 janvier (douze jours), on applique à 5 chats, à 5 lapins et à 5 cobayes le traitement antirabique en usage à l'Institut de Tanger pour les personnes mordues (moelles desséchées sur de la potasse pendant quatre, trois et deux jours, puis conservées en glycérine). Le cinquième animal de chaque lot étant gardé comme témoin, on sacrifie chaque fois, deux, trois, cinq et dix jours après la fin du traitement, 1 chat, 1 lapin et 1 cobaye. Une émulsion épaisse de virus est inoculée à toutes les autopsies dans le cerveau d'un lapin. Aucun des douze animaux ainsi traités n'a présenté le moindre symptôme suspect. Les 3 témoins sont également demeurés indemnes.

EXPÉRIENCE II. — *Vaccination de chiens par la méthode de Calmette. Absence de virus fixe dans le cerveau.*

Du 28 janvier au 8 février (douze jours), 5 chiens sont soumis au traitement antirabique par les moelles desséchées et glycélinées en usage à l'Institut Pasteur de Tanger. L'un de ces animaux présente, au cours de son traitement, des accidents paralytiques auxquels il succombe le 9 février. Passages par le lapin négatifs. Trois autres chiens sont sacrifiés respectivement le dernier jour du traitement, puis cinq et dix-huit jours après lui. Une émulsion épaisse de substance nerveuse est inoculée chaque fois sous la dure-mère du lapin. Résultats négatifs. Le cinquième chien a été conservé comme témoin. Il n'a rien présenté de particulier.

EXPÉRIENCE III. — *Vaccination de chiens par la méthode de Philipps-Bœcker. Absence de virus fixe dans le cerveau.*

Du 28 janvier au 16 février (vingt jours), 5 chiens sont vaccinés par la méthode de Philipps, modifiée par Bœcker, telle qu'elle est employée pour le traitement humain à l'Institut antirabique de Berlin. L'un de ces animaux a présenté le 8 février, au douzième jour, des accidents paralytiques auxquels il a succombé le surlendemain. Passages par le lapin négatifs. Trois autres chiens ont été sacrifiés respectivement un, cinq et dix jours après la dernière inoculation. Une émulsion épaisse de substance bulbaire a été injectée chaque fois dans le cerveau du lapin. Résultats négatifs. Le dernier animal a été conservé comme témoin. Il est demeuré indemne de rage.

Il résulte de ces faits que les chats, les lapins et les cobayes auxquels est appliqué un traitement antirabique identique à celui que suivent les personnes mordues à l'Institut Pasteur de Tanger n'ont de virus fixe dans le bulbe ni au cours des inoculations ni après celles-ci. Les chiens n'ont pas davantage de virus rabique dans le système nerveux central s'ils sont traités par la méthode pasteurienne en usage à Tanger ou par le procédé de Philipps-Bœcker employé à Berlin. Il paraît logique

de conclure qu'une personne soignée par l'une ou l'autre de ces méthodes n'a pas, elle non plus, au cours de la cure, de virus rabique dans le cerveau. Si, par invraisemblable, cette même personne venait à succomber à des accidents paralytiques pendant son traitement ou après lui et si du virus fixe était décelé dans son bulbe, on serait en droit de porter chez elle le diagnostic de rage paralytique à virus fixe, de « *Rage de Laboratoire* », comme il est classique de dire depuis Peter.

*
* *

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons voulu aller plus loin. Nous avons recherché si une très grande prolongation de la cure et, par conséquent, une augmentation considérable de la quantité de substance nerveuse injectée étaient susceptibles de favoriser le passage du virus fixe dans le système nerveux central.

EXPÉRIENCE IV. — *Vaccination de chiens par la méthode de Calmette. Prolongation pendant cent un jours de la durée de l'immunisation. Absence de virus fixe dans le cerveau.*

6 chiens adultes (5 chiens kabyles et 1 chien mouton blanc) sont soumis du 23 février au 6 mars, au traitement antirabique tel qu'il est appliqué à l'homme à l'Institut de Tanger (Méthode de Calmette : moelles desséchées à la température du sous-sol pendant quatre, trois et deux jours, puis conservées en glycérine pendant moins de huit jours. Injection par jour de 2 cent. cubes de moelle).

Du 6 au 24 mars, le traitement est poursuivi en ne faisant usage — alternativement — que de moelles de trois et de deux jours puis, du 24 mars au 4 juin, il n'est employé que des moelles de deux et de un jours. A cette dernière date, au cours des cent un jours qu'a duré le traitement, chaque chien n'a pas reçu moins de 202 cent. cubes de moelles (10 cent. cubes de moelle de quatre jours; 38 cent. cubes de moelle de trois jours; quatre-vingt-six cent. cubes de moelle de deux jours; 68 cent. cubes de moelle de un jour), représentant plus de 5 grammes de substance nerveuse. Les résultats obtenus ont été les suivants :

Le 7 mars, au treizième jour du traitement (lequel n'a pas encore été intensifié), le chien mouton blanc est trouvé couché et dans l'impossibilité de se relever en raison de la faiblesse de l'arrière-train. Évolution d'une paralysie ascendante aiguë du type Landry. Mort le neuvième jour. Les passages effectués avec le bulbe par l'encéphale du lapin sont demeurés négatifs. Les cinq chiens kabyles ont fort bien supporté leur traitement. Non seulement, ils n'ont présenté aucun symptôme paralytique, mais encore ils n'ont accusé ni cachexie, ni amaigrissement. Après cent un jours de traitement, l'état général était tel qu'ils paraissaient pouvoir résister longtemps encore à une nouvelle prolongation de la cure. Des 3 chiens, l'un a été conservé comme témoin et est demeuré vivant et bien portant.

Les 4 autres ont été sacrifiés respectivement deux, quatre, cinq et dix jours après la fin du traitement. Une émulsion épaisse du bulbe a été, chaque fois, inoculée à forte dose dans le cerveau d'un lapin et d'un cobaye. Tous ces animaux sont demeurés indemnes.

Même si le traitement antirabique est poursuivi dans des conditions qui, quelle que soit la gravité de la morsure, ne sont pas susceptibles de se rencontrer dans la pratique... de façon si intensive que, pendant soixante-dix-sept jours, les animaux reçoivent alternativement 2 centimètres de moelle de deux jours et 2 centimètres de moelle d'un seul jour, même dans ces conditions évidemment des plus favorables, le virus fixe ne paraît donc pas susceptible de passer dans le système nerveux central...

*
* *

Il eût été indiqué d'inoculer sous la dure-mère du lapin de la substance cérébrale ou bulbaire prélevée à l'autopsie de personnes ayant succombé au cours du traitement antirabique ou peu après lui à des maladies n'ayant pas de rapport avec la rage. Mais aucun décès ne s'est produit à notre Institut dans ces conditions... Nous avons, par contre, observé 2 cas de mort chez un chien et chez un âne en cours d'immunisation rapide pour l'obtention de sérum antirabique et nous n'avons pas manqué de chercher à déceler la présence du virus dans le système nerveux central. Voici résumées ces deux observations :

EXPÉRIENCE V. — *Hyperimmunisation d'un chien en vue de la production de sérum antirabique. 25 cerveaux de lapin. — Virus fixe sous la peau. Mort de septicémie. Absence de virus dans le cerveau.*

Un chien fauve de race kabyle, de taille moyenne, est soumis du 18 juin au 1^{er} juillet 1927 à la vaccination antirabique par la méthode de Semple. Le 22 juillet, on lui inocule sous la peau un cerveau entier, éthérisé pendant vingt-quatre heures, de lapin ayant succombé au virus fixe. Les 24, 26, 28, 29 juillet, 1^{er} et 3 août, il reçoit de même, par voie sous-cutanée, des cerveaux entiers de lapin. — Virus fixe éthérisés respectivement vingt, quinze, douze, dix et cinq heures. A partir du 5 août, on lui injecte une ou deux fois par semaine sous la peau, un cerveau entier et non atténué de lapin de passage. Le 9 février 1928, l'animal a reçu ainsi 20 cerveaux entiers de lapin. La dernière inoculation est le point de départ de complications septiques auxquelles l'animal succombe le 15 février. A l'autopsie, il est fait un prélèvement de substance cérébrale. Celle-ci est émulsionnée dans de l'eau stérilisée et inoculée à forte dose dans le cerveau d'un lapin et d'un cobaye. Les deux animaux sont demeurés vivants et parfaitement portants.

EXPÉRIENCE VI. — *Vaccination d'un âne par le virus. — Éther en vue de la production de sérum antirabique, 9 cerveaux de lapin. — Virus fixe sous la peau. Absence de virus dans le cerveau.*

Au cours d'expériences sur la production du sérum antirabique, un âne reçoit le 5 décembre 1927 sous la peau des côtes et du poitrail, émulsionné dans 50 cent. cubes d'eau physiologique, un cerveau entier de lapin virus fixe ayant séjourné trente heures dans l'éther sulfurique. L'immunisation est poursuivie les 14, 19 et 23 décembre par l'inoculation de cerveaux éthérisés respectivement vingt-quatre, vingt et quinze heures. Le 26 décembre, on commence l'inoculation de cerveaux de lapins de passage non atténués. Le 9 février, l'animal a reçu sous la peau, en plus des cerveaux éthérisés, cinq de ces cerveaux. Le 12 février, il succombe rapidement à un œdème de la glotte. Il est fait à l'autopsie des prélèvements au niveau du bulbe. Après émulsion dans de l'eau stérilisée, la substance nerveuse est inoculée à forte dose sous la dure-mère d'un lapin et d'un cobaye. L'un et l'autre sont demeurés vivants et bien portants.

Des résultats négatifs analogues aux nôtres ont été observés par plusieurs auteurs. M. Neufeld a rapporté à la Conférence Internationale de la Rage qu'à Berlin les expériences entreprises pour vérifier les assertions de M. Quast avaient donné des résultats opposés à ceux de cet auteur. De même, MM. Schnürer et David (1) n'ont pas réussi à mettre le virus fixe en évidence dans le cerveau de chiens traités par voie sous-cutanée avec le virus fixe de Vienne pendant vingt-quatre jours (4 chiens) ou vingt-six jours (5 chiens). Ils n'ont pas réussi davantage à déceler la présence de virus fixe dans le cerveau ou la moelle de chiens ou de cobayes inoculés dans le péritoine ou sous la peau avec de très fortes doses (2 grammes) de virus fixe frais et sacrifiés ensuite à des intervalles variables. Quels qu'aient été le temps écoulé ou la dose inoculée, toutes leurs expériences ont donné des résultats négatifs. Plus récemment, à Tunis, M. Burnet (2) a recherché le virus fixe dans le cerveau de 4 lapins soumis à un traitement antirabique particulièrement intensif (80 injections sous-cutanées de 15 milligrammes chacune de cerveau de chien mort de rage à virus de passage) et ne l'a pas rencontré.

Ainsi, que les expériences portent sur le chien, le chat, l'âne, le cobaye ou le lapin; sur les méthodes de Calmette, de

(1) JOSEPH SCHNÜRER et HANS DAVID, Immunisation du chien contre la rage par voie cutanée. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift*, 29 avril 1927, p. 273-274.

(2) ET. BURNET, Traitement antirabique intensif chez le lapin. Absence de virus fixe dans les centres nerveux et rareté des accidents paralytiques. *Soc. de Biologie*, 4 février 1928, p. 359.

Philipps ou sur le vaccin éthérisé ; que les animaux soient sacrifiés aussitôt après la cure ou quelques jours après elle ; que le traitement soit un traitement normal, ou qu'il ait été intensifié pour les besoins de l'expérience elle-même ou en vue de la production du sérum antirabique, le résultat est identique : les inoculations au lapin de fortes doses de substance nerveuse n'aboutissent pas à la mise en évidence du virus fixe dans la moelle, le bulbe ou le cerveau. Comme en témoigne une expérience de plus de quarante années, les personnes qui suivent ou qui viennent de suivre le traitement antirabique sont donc tout à fait inoffensives pour leur entourage. Il en est de même des animaux soumis aux vaccinations, des chiens en particulier. Pour ceux-ci, le fait a une grande importance, car la présence du virus rabique dans leur salive serait la condamnation absolue de leur vaccination. En outre, si au cours de l'immunisation, ou peu de temps après elle, un homme ou un animal vient à succomber à des accidents paralytiques et que du virus fixe soit décelé dans le cerveau par l'inoculation du lapin, il est parfaitement légitime d'attribuer la mort au dit virus.

Reste à expliquer, dans l'observation de M. Quast qui a été le point de départ de toutes ces recherches, la présence du virus rabique dans le bulbe d'un mordu mort de méningite tuberculeuse. L'hypothèse la plus vraisemblable paraît être l'évolution de la méningite chez une personne en incubation de rage ou encore une infection mixte, les symptômes rabiques se trouvant masqués par ceux de la méningite, ainsi qu'il est fréquent dans les maladies mixtes, hybrides ou métisses (1). Ces hypothèses supposent, il est vrai, l'existence dans le bulbe du malade de virus de rue et non de virus fixe. Mais on sait quelles insurmontables difficultés est susceptible de présenter parfois cette différenciation, dans les cas de virus de rue naturellement renforcé par exemple.

(1) P. REMLINGER, Les maladies mixtes, hybrides ou métisses (maladies proportionnées de Torti) en médecine d'armée. *Paris Médical*, 1916, p. 550-555.

LA VACCINATION LOCALE DANS LA RAGE. ÉCHEC DE LA VACCINATION INTRA-CÉRÉBRALE

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

par P. REMLINGER et J. BAILLY.

Nous avons montré antérieurement (1) que les animaux vaccinés au moyen de frictions sur la peau rasée avec des émulsions de virus rabique atténué par la dessiccation ou par l'éther, étaient susceptibles d'acquérir un certain degré d'immunité soit contre l'épreuve du brossage sur cette même peau rasée avec du virus fixe ou du virus de rue, soit contre l'inoculation de ces virus dans les muscles de la nuque. Toutefois, nous avons fait remarquer que quelques cas de mort observés malgré une forte vaccination locale devaient mettre en garde contre l'exagération et préserver de la tentation de renoncer aux méthodes traditionnelles de l'immunisation pastorienne. Dans les expériences qui viennent d'être rapportées, s'est-il bien agi d'une vaccination locale? Ne s'est-on pas plutôt trouvé en présence d'une immunisation générale provoquée par une introduction locale de virus? Quoique la rage ait été rangée parmi les ectodermoses neurotropes, elle apparaît essentiellement comme une maladie du système nerveux. Dès lors, n'est-ce pas le système nerveux que doit viser, avant tout, une immunisation dite locale? Une expérience de MM. Marie et Mutermilch (2), où les lapins vaccinés par la voie méningée au moyen de cerveaux rabiques traités par l'éther sont devenus, après trois injections, réfractaires à des inoculations intracérébrales de virus fixe; le fait aussi que, dans des recherches sur la durée de l'immunité antirabique chez le lapin, nous avons vu (3) certains individus résister des années et que le

(1) Ces *Annales*, avril 1928, p. 349-355.

(2) MARIE et MUTERMILCH, Essais de vaccination antirabique du lapin par la voie méningée. *C. R. Acad. des Sciences*. 184, p. 911, séance du 4 avril 1927.

(3) P. REMLINGER, Vaccination du lapin contre l'inoculation sous dure-mérienne de virus fixe. Appréciation de la durée de l'immunité. *Archives des Instituts Pasteur de l'Afrique du Nord* juillet 1921, p. 185-192.

soupçon nous était venu que les trépanations d'épreuve jouaient peut-être, dans cette prolongation, un rôle égal à celui de la vaccination initiale; toutes ces circonstances nous incitaient à mettre beaucoup d'espoir dans ces expériences d'immunisation par voie cérébrale. La désillusion a été complète.

EXPÉRIENCE I. — *Vaccination du lapin par voie cérébrale avec des moelles desséchées. Quatre inoculations de moelle de cinq, quatre, trois et deux jours. Épreuve intra-cérébrale. Aucune immunité soit pour le virus de rue, soit pour le virus fixe.*

Le 17 novembre 1927, 9 lapins reçoivent dans l'hémisphère droit 1/4 de centimètre cube d'une émulsion à 1 p. 50 de moelle de lapin virus fixe desséchée pendant cinq jours sur de la potasse, dans les conditions bien connues de la méthode pastorienne classique. Cette épreuve qui, au début de la pratique de la vaccination antirabique, aurait infailliblement amené la mort de tous les lapins et qui, aujourd'hui, la produirait peut-être encore dans un certain nombre d'Instituts, laisse les animaux indifférents à l'exception d'un seul qui est pris de rage le 26 novembre (neuvième jour) et meurt le lendemain. Le 1^{er} décembre, les 8 lapins restant reçoivent — toujours dans l'hémisphère droit — 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 p. 50 de moelle desséchée pendant quatre jours. L'un d'eux est pris de rage huit jours plus tard le 9 décembre et meurt le 12. Les 7 lapins survivants reçoivent le 16 décembre 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 p. 50 de moelle du troisième jour, puis le 26 décembre 1/4 de centimètre cube d'émulsion de moelle du deuxième jour. Le 6 janvier, ces 7 lapins étant parfaitement portants, on estime que le moment est venu de les éprouver et on procède à l'opération de la façon suivante :

Les animaux sont divisés en deux lots : l'un de quatre lapins qui sera éprouvé avec un virus de rue tuant le lapin en dix jours; l'autre de trois lapins qui recevra du virus fixe tuant le lapin en six-sept jours. Dans chaque lot, l'épreuve sera faite comparativement dans l'hémisphère droit où le vaccin a été injecté et dans l'autre.

Les résultats ont été :

VIRUS DE RUE.

Hémisphère droit.

Lapin 1 + rage le douzième jour.
Lapin 2 + rage le onzième jour.

Hémisphère gauche.

Lapin 3 + rage le dixième jour.
Lapin 4 + rage le onzième jour.

VIRUS FIXE.

Hémisphère droit.

Lapin 5 + rage le sixième jour.
Lapin 6 + rage le quatorzième jour.

Hémisphère gauche.

Lapin 7 + rage le septième jour.

LAPINS TÉMOINS.

Virus de rue + rage le dixième jour.

Virus fixe + rage le septième jour.

Tous les animaux supposés vaccinés ont donc pris la rage et ils ont succombé dans des conditions sensiblement identiques à celles des témoins.

EXPÉRIENCE II. — *Vaccination du lapin par voie cérébrale avec des moelles desséchées. Six inoculations (V, IV, III, III, II, II). Épreuve intra-cérébrale au moyen du virus de rue et du virus fixe. Aucune immunité.*

Le 13 décembre 1927, 10 lapins reçoivent dans l'hémisphère gauche 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 p. 50 de moelle desséchée sur de la potasse depuis cinq jours dans les conditions usitées pour la vaccination antirabique par la méthode pastorienne classique. Le 22, aucun d'eux n'ayant pris la rage, on procède à l'inoculation de 1/4 de centimètre cube d'émulsion de moelle de quatre jours. Le 30 décembre, huit jours après cette dernière inoculation, un lapin présente les symptômes d'une rage paralytique à laquelle il succombe le lendemain. Le 2 janvier, les 9 lapins restant reçoivent, toujours dans l'hémisphère gauche, de la moelle de trois jours. Huit jours plus tard (10 janvier), un lapin présente les premiers symptômes de la rage à laquelle il succombe le 12. Le 21 et le 24 janvier, deux autres cas de mort se produisent déterminés encore par une rage paralytique classique. Deux inoculations intra-cérébrales avaient par conséquent été impuissantes à vacciner contre un virus cependant atténué. Le 27 janvier, les 10 lapins restant reçoivent 1/4 de centimètre cube d'une émulsion à 1 p. 50 de moelle du troisième jour, puis le 1^{er} février la même quantité d'une émulsion de moelle du deuxième jour. Le 9 février, nouvelle inoculation de 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 p. 50 de moelle du deuxième jour.

Le 28 février, on a tout lieu de supposer immunisés ces 6 animaux qui n'ont pas reçu dans l'hémisphère gauche moins de 6 inoculations de 1/4 de centimètre cube chacune de moelle de cinq, quatre, trois, trois, deux, deux jours. On les éprouve donc moitié avec du virus de rue, moitié avec du virus fixe; moitié dans l'hémisphère vacciné, moitié dans l'hémisphère opposé. Les résultats obtenus ont été :

VIRUS FIXE.

Hémisphère gauche.

Lapin 1 + rage le septième jour.

Lapin 2 + rage le septième jour.

Hémisphère droit.

Lapin 3 + rage le huitième jour.

VIRUS DE RUE.

Hémisphère gauche.

Lapin 4	+ rage le quatorzième jour.
Lapin 5	+ rage le quinzième jour.

Hémisphère droit.

Lapin 6	+ rage le seizième jour.
-------------------	--------------------------

LAPINS TÉMOINS.

Virus fixe	+ rage le septième jour.
Virus de rue	+ rage le quinzième jour.

En dépit du grand nombre d'injections pratiquées, la vaccination intra-cérébrale s'est donc montrée tout à fait inopérante. Ayant ainsi échoué avec les moelles desséchées, nous avons pensé être plus heureux avec les cerveaux rabiques atténués par l'éther dans les conditions déterminées expérimentalement par l'un de nous (1).

EXPÉRIENCE III. — *Vaccination du lapin par voie cérébrale au moyen de virus éthérisé. Trois inoculations d'émulsions de cerveaux ayant séjourné dans l'éther respectivement cent trois, quatre-vingt-seize et quatre-vingts heures. Aucune immunité soit contre le virus de rue, soit contre le virus fixe.*

Le 23 janvier, 9 lapins reçoivent dans l'hémisphère gauche 1/4 de centimètre cube d'une émulsion à 1 pour 50 de cerveau de lapin virus fixe ayant séjourné dans l'éther sulfurique pendant cent trois heures. C'est une épreuve extrêmement sévère puisque nous avons montré que c'était seulement après cent vingt heures que les cerveaux de lapins ayant succombé au virus fixe de l'Institut de Tanger perdaient complètement leur virulence. De fait, du 2 au 4 février, 5 lapins présentent les premiers symptômes d'une rage paralytique à laquelle ils succombent du 3 au 7, c'est-à-dire du neuvième au treizième jour après l'inoculation.

Le 5 février, les 4 lapins survivants reçoivent dans l'hémisphère gauche 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 pour 50 de virus fixe éthérisé pendant quatre-vingt-seize heures.

Le 13 février, troisième inoculation de 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 pour 50 de virus fixe éthérisé pendant quatre-vingts heures.

Le 23 février, les animaux sont éprouvés les uns avec du virus fixe, les autres avec du virus de rue et, avec chacun des deux virus, l'inoculation est pratiquée soit dans l'hémisphère vacciné, soit dans l'hémisphère opposé. Les résultats obtenus ont été les suivants :

VIRUS DE RUE.

Hémisphère vacciné.

Lapin 1	+ rage le quatorzième jour.
-------------------	-----------------------------

(1) P. REMLINGER, Action de l'éther sur le virus rabique. Ces *Annales*, septembre 1919.

Hémisphère opposé.

Lapin 2 + rage le quatorzième jour.

VIRUS FIXE.

Hémisphère vacciné.

Lapin 3 + rage le huitième jour.

Hémisphère opposé.

Lapin 4 + rage le huitième jour.

Ainsi, bien que le virus employé ait été très peu atténué, puisque les cerveaux avaient séjourné dans l'éther seulement cent trois, quatre-vingt-seize et quatre-vingts heures et que plus de la moitié des animaux avaient succombé après la première inoculation, l'effet de la triple inoculation a été absolument nul et le vaccin éthérisé s'est montré tout aussi inopérant que le vaccin desséché.

EXPÉRIENCE IV. — *Vaccination du lapin par voie cérébrale au moyen du virus éthérisé. Inoculation de cerveaux ayant séjourné dans l'éther successivement cent vingt-cinq, cent deux, quatre-vingt-quatorze et soixante-dix-huit heures. Aucun effet vaccinant.*

Le 6 février, 8 lapins reçoivent dans l'hémisphère cérébral gauche 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 pour 50 de cerveau de lapin virus fixe ayant séjourné dans l'éther cent vingt-cinq heures. Le 14 février, deuxième inoculation de 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 pour 50 de cerveau de lapin virus fixe éthérisé cent deux heures. Le 22 février, huit jours après la deuxième inoculation, apparition chez un lapin des symptômes d'une rage paralytique à laquelle il succombe le lendemain. Le 23 février, troisième inoculation d'un cerveau éthérisé quatre-vingt-quatorze heures.

Le 1^{er} mars, sept jours après la troisième injection, 2 lapins présentent les symptômes de la rage paralytique à laquelle ils succombent le lendemain. Ils n'avaient donc pas été vaccinés par les deux premières inoculations. Le 5 mars, il est procédé à une quatrième inoculation de 1/4 de centimètre cube d'émulsion à 1 pour 50 de virus fixe éthérisé durant soixante-dix-huit heures. Le 13, 1 lapin est atteint de rage paralytique et succombe le lendemain. Restent donc 4 lapins. 3 d'entre eux sont pris le 14 et meurent le 15. Ce même jour (quinze jours après la dernière inoculation), le dernier animal présente les symptômes d'une rage paralytique à laquelle il succombe le 16. Trois inoculations de cerveaux éthérisés cent vingt-cinq, cent deux et quatre-vingt-quatorze heures, avaient donc été impuissantes à vacciner contre un virus dépendant atténué. Cet échec est péremptoire et il nous a semblé inutile de poursuivre plus longtemps ces expériences.

En résumé, que le virus rabique ait été atténué par la dessiccation (19 lapins) ou par l'éther (17 lapins); que le nombre des inoculations ait été de 3, de 4, de 5 et même de 6; que l'épreuve ait porté ensuite sur l'hémisphère vacciné

ou sur l'hémisphère opposé; qu'elle ait été effectuée avec du virus de rue ou avec du virus fixe, le résultat a été le même. Tous les animaux ont succombé dans les mêmes délais que les témoins et nous n'avons jamais réussi à mettre en évidence la plus petite trace d'immunisation.

Le moins que nous puissions conclure est qu'entre nos mains la vaccination cérébrale de la rage — vaccination locale par excellence semble-t-il — a totalement échoué. La discordance qu'à un examen superficiel on pourrait relever entre nos résultats et ceux de MM. Marie et Mutermilch n'est qu'apparente. Ce n'est pas par voie intracérébrale, mais par voie méningée que ces auteurs ont immunisé leurs animaux. Or ces deux voies sont essentiellement différentes. Pour ce qui est de la rage, le fait résulte notamment des travaux récents, mais déjà classiques de M. Speransky (1). Non seulement, dans nos expériences, nous avons délibérément toujours pratiqué nos inoculations dans le cerveau, mais encore, aux autopsies, nous n'avons jamais manqué de vérifier grâce à l'existence de petites cicatrices rougeâtres que le but proposé avait été atteint et que c'était bien dans la substance cérébrale que l'injection avait été poussée.

(1) SPERANSKY, Faits nouveaux sur la Pathogénie et la Prophylaxie de la Rage. *Ces Annales*, février 1927, p. 195-198.

ÉTUDES SUR LA VISCOSITÉ DU SÉRUM SANGUIN EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE ET SUR L'HYDRATATION DE SES PROTÉINES

par M. LECOMTE DU NOUY

I. — INTRODUCTION.

La mesure de la viscosité des solutions colloïdales se heurte à de grandes difficultés si l'on a recours aux méthodes basées sur l'emploi d'un tube capillaire. Certaines de ces méthodes, portées à un haut degré de perfection par de nombreux investigateurs, sont d'une grande sensibilité et d'une grande précision, lorsqu'on dispose d'importantes quantités de liquide, que la température est rigoureusement contrôlée, que le diamètre des capillaires est exactement connu, que la pression qui agit sur le liquide est constante et faible, etc..., et enfin, que le liquide n'est pas colloïdal.

Dans le cas contraire (solution colloïdale), d'excellentes mesures ont néanmoins été réussies (Loeb, Northrop, Kunitz) au prix de grandes difficultés techniques. Lorsqu'on parvient en vainquant ces difficultés, à effectuer de bonnes mesures, en admettant que l'on dispose d'une quantité de liquide suffisante pour négliger l'adsorption sur les parois du verre, on ne peut en aucun cas tenir compte de l'action du temps sur une solution, et chaque mesure, à une température donnée, est fort longue. Supposons, par exemple, qu'une mesure demande une demi-heure. D'une part, il faut admettre qu'au début et à la fin de la mesure, la viscosité est la même, et n'a subi aucune variation durant ce temps (d'où impossibilité de suivre la marche d'une réaction par les variations que subit la viscosité) et, d'autre part si l'on veut étudier le phénomène en fonction de la température, par exemple, il faut disposer de plusieurs jours, et l'on sait que l'instabilité des solutions colloïdales physiologiques, en particulier du sérum, ne permettrait pas

d'affirmer que son état physico-chimique n'a pas varié entre deux mesures. Il nous a donc paru désirable d'étudier un modèle de viscosimètre qui échapperait à ces contingences, et permettrait, en agissant sur une petite quantité de liquide de l'ordre de 1 cent. cube de faire des mesures extrêmement précises, mais instantanées, si l'on peut dire, et grâce auquel l'action du temps ou de la température pourrait être suivie sans aucune difficulté. Nous ne nous étendrons pas sur cet appareil qui a été construit dans nos laboratoires à l'Institut Rockefeller, dont la description a paru en 1923 (1). Nous nous bornerons à rappeler qu'il est basé sur le principe de cylindres coaxiaux; le cylindre extérieur sert de récipient pour le liquide et est entraîné à faible vitesse constante, tandis que le cylindre intérieur, ou plongeur, est suspendu à un fil fin et porte un miroir et un dispositif d'amortissement efficace. L'ensemble est immergé dans un bain d'huile, contenu lui-même dans une enceinte à double paroi où circule l'eau provenant d'un thermostat. Le principe sur lequel repose le maintien de la température constante a été décrit dans l'article cité plus haut, nous n'y reviendrons donc pas. Une résistance immergée dans l'huile permet de faire croître la température de façon constante, suivant un certain gradient, dans le cas où l'on étudie la viscosité en fonction de la température. Les appareils de contrôle du moteur et de la température se trouvent, avec l'échelle transparente, sur une table séparée, à 1^m50 de l'appareil lui-même.

Nous nous sommes proposé d'étudier la viscosité du sérum sanguin à toutes les températures entre 20° et 70°. Le but de ce mémoire est de rendre compte des résultats expérimentaux obtenus, et des conclusions que l'on peut en tirer.

II. — EXPÉRIENCES.

Les expériences ci-dessous ont toutes été faites avec du sérum de lapin normal, sauf celles qui sont spécifiquement désignées comme exécutées avec le sérum d'un autre animal. Nous avons effectué 167 séries d'expériences, dont 130 à l'Institut Rocke-

(1) DU NOUY (P. L.). *Journ. Gen. Phys.*, 5, 1923, p. 429.

feller de New-York et 37 à l'Institut Pasteur, ce qui représente encore 17.000 lectures qui auraient demandé 17.000 mesures séparées avec toute autre méthode. Dans le cas présent, une

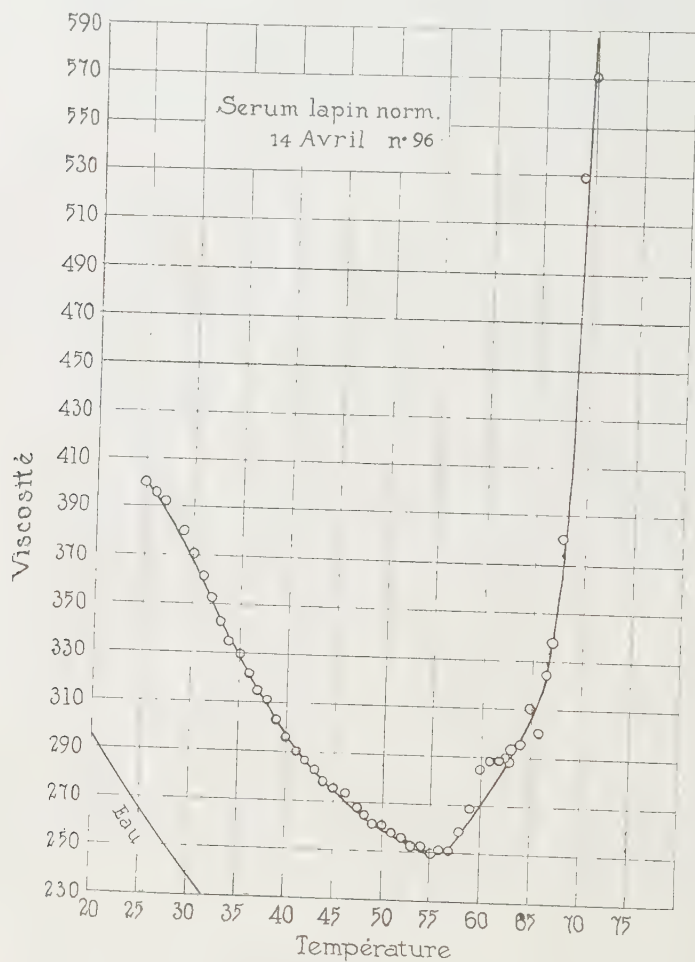


FIG. 1.

série d'environ 100 à 150 lectures de 20 à 70° (température croissante), et de 70 à 20° (refroidissement), représente en moyenne une heure et demie d'observation. Étant donné que la lecture se fait sur un échelle graduée, au moyen d'un spot lumineux sans aucune manipulation, les expériences se font

sans fatigue ni difficulté. En envoyant un courant de 1 ampère dans la résistance immergée, la température monte de 20 à 70° en quarante-cinq minutes environ.

Au lieu de publier les protocoles d'expériences, dont la lecture est fastidieuse, nous préférons publier les courbes qui les représentent et qui permettent d'embrasser l'évolution du phénomène d'un seul coup d'œil. Néanmoins nous donnons ci-dessous un protocole complet afin de permettre au lecteur de se rendre un compte exact d'une expérience type.

TABLEAU I. — **Sérum n° 58.**

Viscosité en fonction de la température, d'un sérum de lapin normal, dix-neuf heures après exsudation.

Les chiffres sont arbitraires et représentent les lectures sur l'échelle, mais sont proportionnels à la viscosité absolue.

Température.	24,2	26	28	30	33	35	38	40
Viscosité	440	425	416	402	380	367	346	333
Température.	42	45	47	47	50	51	52	53
Viscosité	320	302	295	266	278	275	270	266
Température.	54	55	56	56,5	57	58	59	59,5
Viscosité	263	260	257	257	256	255	255	257
Température.	60	61	62	62,5	63	65	67	68
Viscosité	257	261	266	270	275	293	312	340
Température.	69	70	1 minute à 70.			2 minutes à 70.		
Viscosité	350	385	445			Fluctuations vers 68 (525).		

Durée de l'expérience : quarante-trois minutes.

TABLEAU II. — **Sérum n° 58.**

Viscosité en fonction de la température du même sérum âgé de trois jours.

Température.	23,4	24	25	27	29	30	32	35
Viscosité.	450	440	433	422	410	402	381	368
Température.	37	39	41	42	44	45	47	49
Viscosité.	357	347	328	315	310	303	292	281
Température.	50	51	52	53	53,5	54	55	56
Viscosité	276	273	270	266	62	265	260	260
Température.	57	58	59	60	61	61	62	62,5
Viscosité.	257	256	254	259	264	262	262	270
Température	63	64	65	67	68	68	69	70
Viscosité	272	279	285	298	314	314	335	390
Température	1 minute.		2 minutes.		3 minutes à 70.			
Viscosité	423		453		495			

Fluctuations vers 58 et 63.

Durée de l'expérience : quarante-cinq minutes.

TABLEAU III. — **Sérum n° 58.**

Viscosité en fonction de la température du même sérum chauffé pendant quinze minutes à 55° en tube scellé, même date.

Température.	25	27	29	31	33	35	37	39
Viscosité.	446	432	416	403	387	372	358	343
Température.	41	43	45	47	49	50	51	52
Viscosité.	328	314	302	291	280	275	271	268
Température.	53	54	55	56	57	58	59	60
Viscosité.	266	263	259	257	254	252	251	251
Température.	61	62	63	65	67	68	69	70
Viscosité.	253	258	264	277	290	300	350	370
Température.	1 minute.		2 minutes.		3 minutes.		4 minutes à 70.	
Viscosité.	395		420		447		472	

Durée de l'expérience : quarante-trois minutes.

L'aspect de la courbe (fig. 1, 2, 3) révèle immédiatement l'existence d'un point critique, un minimum absolu de la viscosité, situé aux environs de 56°, que nous avons déjà signalé précédemment.

Or on sait que cette température correspond précisément à certains phénomènes connus en biologie et à la disparition de certaines propriétés du sérum (complément). Tous les sérums étudiés jusqu'à ce jour se sont comportés de la même façon. La figure 2 exprime les résultats obtenus avec deux sérums de cheval normal.

Il est à remarquer que les ordonnées ne correspondent pas avec celles de la figure 1, parce que ce sérum de cheval étant plus visqueux que celui du lapin (lapin normal en moyenne $\eta = 1,62$, cheval normal en moyenne $\eta = 1,80$, $\eta =$ viscosité spécifique ou rapport de la viscosité absolue de la solution à celle de l'eau) le réglage de l'appareil a dû être modifié de manière à maintenir le spot sur l'échelle, qui ne porte que 500 divisions).

Cette valeur minima qui reste parfois constante entre 56 et 58° est suivie à partir de 58 ou 59° d'une augmentation de la viscosité, qui croît alors rapidement.

A partir de 62° l'accroissement devient extrêmement rapide, et en général, avant que 70° soient atteints, le spot quitte l'échelle. Cependant dans certains cas (fig. 3) ce n'est qu'au bout de deux minutes à 70° que le spot disparaît.

Ce phénomène est intéressant parce qu'il montre clairement

l'existence de deux phases distinctes dans l'attitude des protéines du sérum vis-à-vis de la température. La première pour ainsi dire préparatoire, s'arrête à 56 ou 58° et ne détermine

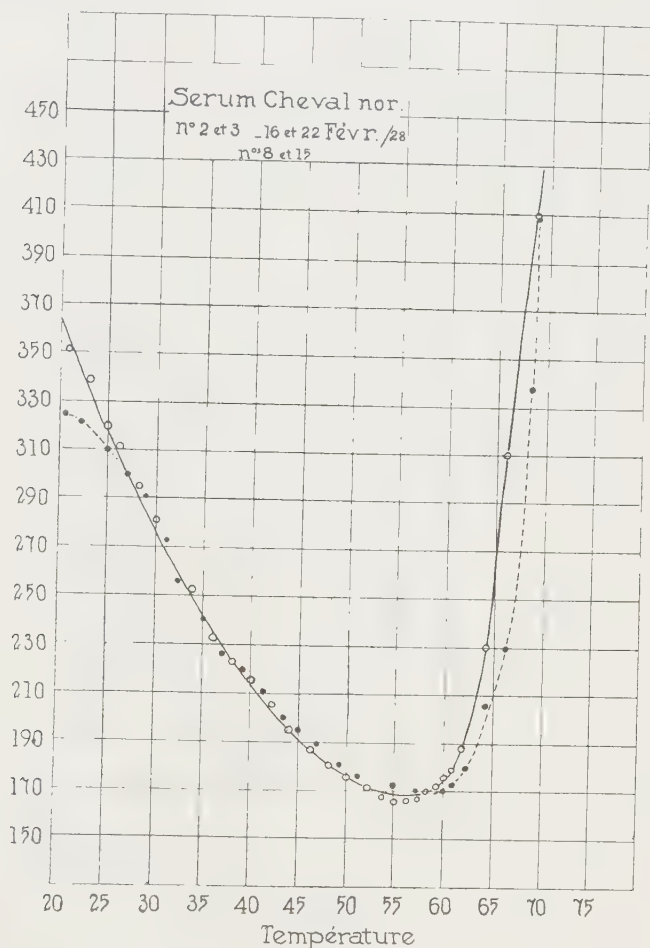


FIG. 2.

aucune coagulation. La seconde commence à la même température et aboutit à la coagulation.

Il nous a paru intéressant d'étudier ces phénomènes de plus près, afin de déterminer le rôle respectif du temps et de la température aux environs du point critique. On peut se demander

en effet si une température de 55° prolongée suffisamment ne déterminerait pas dans le sérum une viscosité semblable à celle que détermine une température de 58 à 60° par exemple en quelques minutes. En d'autres termes, si la valeur absolue de

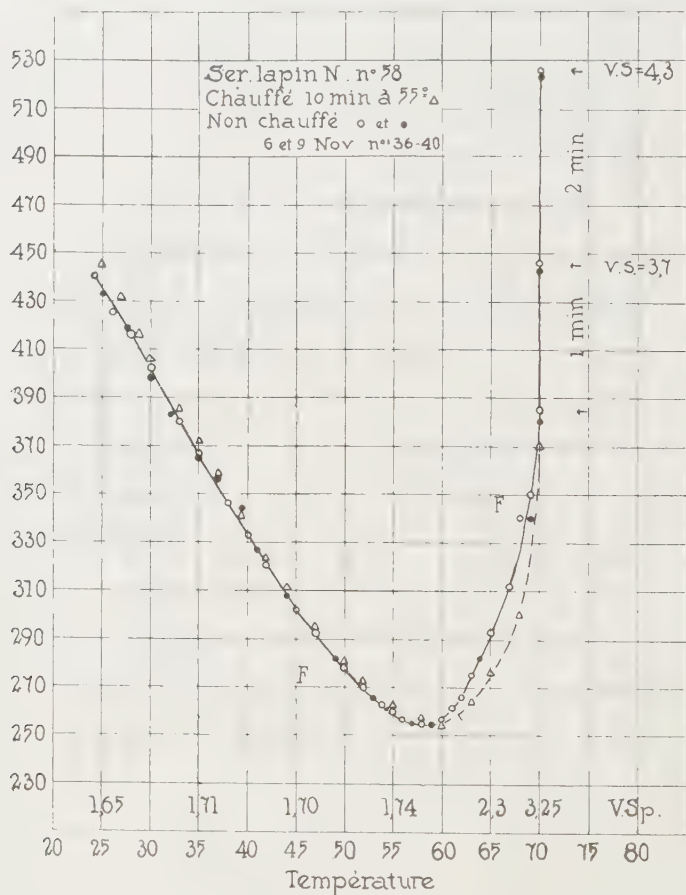


FIG. 3.

la température joue un rôle spécifique dans les phénomènes de la coagulation, ou si ces phénomènes commencent à se produire d'une façon presque insensible aussitôt que la température s'élève — vers 40 ou 45° par exemple — de telle sorte qu'un chauffage prolongé à basse température aurait le même effet

qu'un chauffage court à haute température. Nous savons déjà que le complément commence à se détruire vers 45°. Il y a donc intérêt à chercher s'il existe une corrélation entre les phéno-

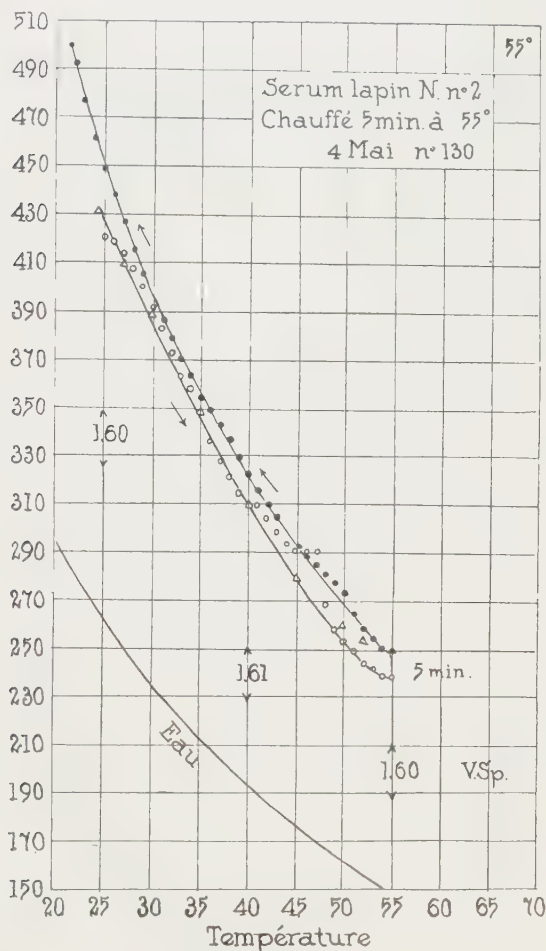


FIG. 4.

mènes physico-chimiques que nous mesurons et l'altération des propriétés biologiques du sérum.

La première expérience qui s'imposait était évidemment de répéter les expériences précitées avec du sérum chauffé en tube scellé, afin de constater les différences. La figure 3 exprime le

résultat de trois séries de mesures avec le même sérum : deux séries (cercles blancs et noirs avec le sérum non chauffé) et une série avec le sérum préalablement chauffé à 55° pendant dix

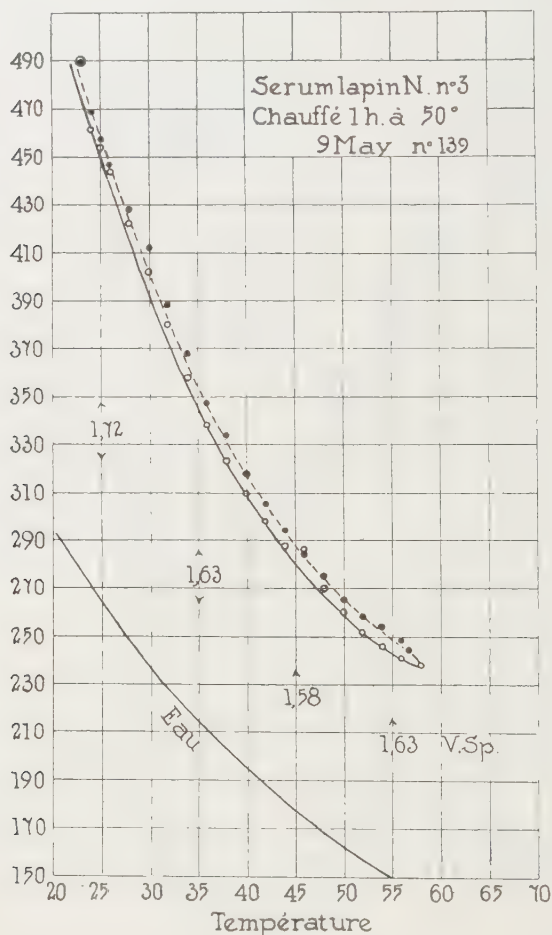


FIG. 5.

minutes (triangles). Il est bien évident que les trois courbes coïncident, sauf cependant à partir de 60° où un léger décalage se produit, la viscosité du sérum chauffé apparaissant légèrement moins forte.

Étant donné que la partie la plus intéressante de la courbe

est celle comprise entre 20 et 55° ou 60°, les expériences suivantes furent faites de la façon suivante afin d'introduire un contrôle supplémentaire : la température était progressivement

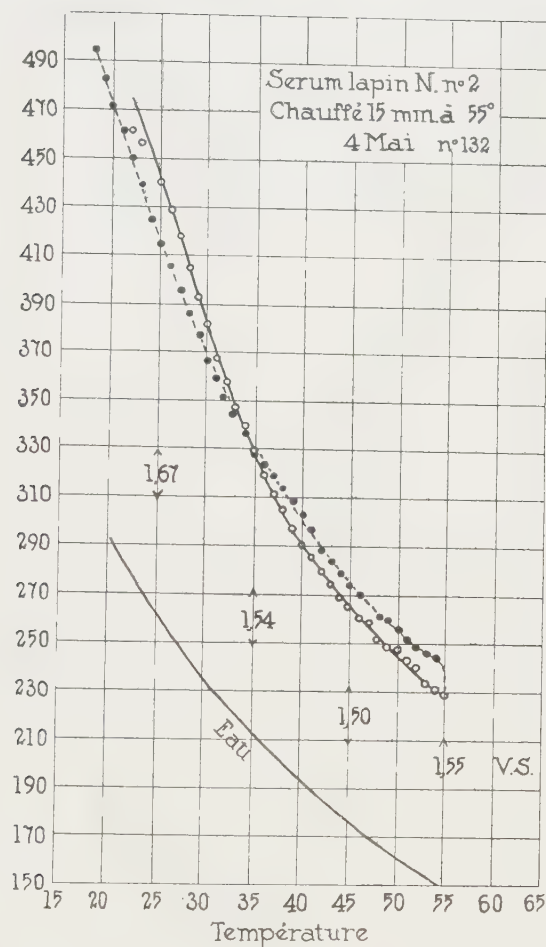


FIG. 6.

amenée au point choisi, puis, le courant de chauffage étant coupé, le refroidissement réglé de façon à se produire à peu près dans le même temps (quarante minutes de 60 à 20°). Les lectures n'étaient pas interrompues, et l'on pouvait maintenir le sérum pendant un temps quelconque à la température

maxima par exemple. De cette façon on obtient deux courbes qui, si elles coïncident à peu près, montrent que le phénomène est réversible et que le chauffage n'a pas altéré les propriétés

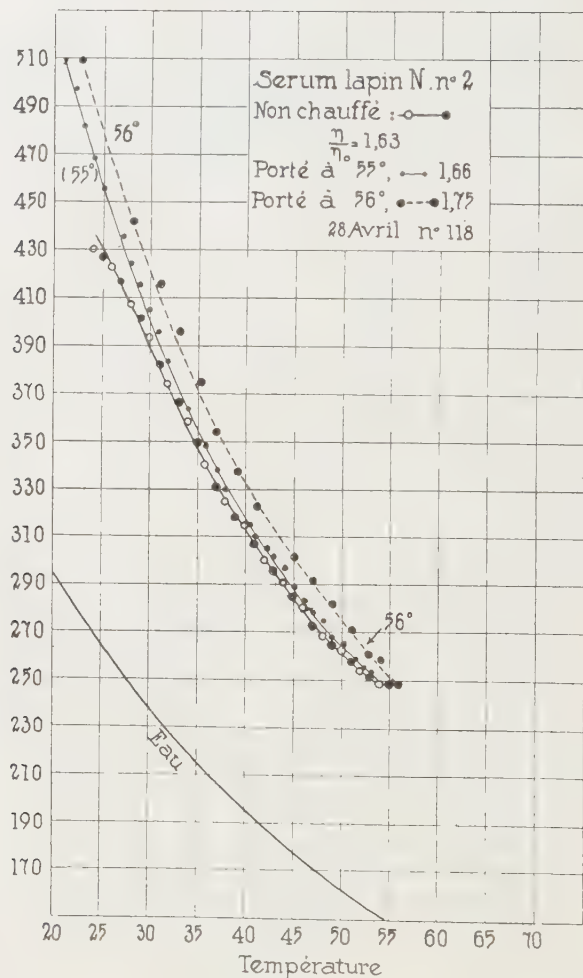


FIG. 7.

physiques étudiées. Il faut évidemment tenir compte de l'évaporation qui se produit pendant le chauffage et qui, bien que faible, n'est pas négligeable et tend à augmenter légèrement la concentration. La figure 4 exprime le résultat d'une telle

expérience avec contrôle. Les valeurs du sérum témoin non chauffé sont indiquées par des triangles, celles du sérum chauffé cinq minutes à 55° par des cercles blancs. Les cercles noirs représentent les valeurs prises par ce sérum *au retour* (refroidissement) après avoir été maintenu cinq minutes à

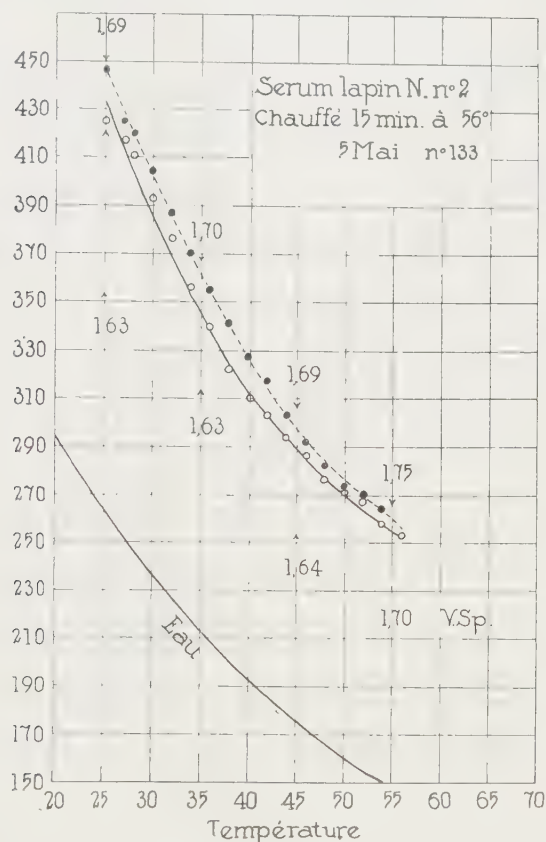


FIG. 8.

55° de nouveau. On constate encore une fois que le chauffage n'a en rien modifié la viscosité du sérum à toutes les températures jusqu'à 50°, et que seul un très faible écart, de l'ordre des erreurs expérimentales, s'est produit vers 53° ou 55°. La viscosité relative à toutes les températures est égale à $1,60 \pm 0,01$. Il est à remarquer que la viscosité spécifique du sérum ne varie

pas ou très peu, c'est-à-dire que tout se passe comme si les substances protéiques et autres constituant le sérum ne jouaient aucun rôle dans le phénomène de décroissance de la viscosité en fonction de la température, jusque vers 50°. Elles se comportent comme des molécules inertes et déterminent seule-

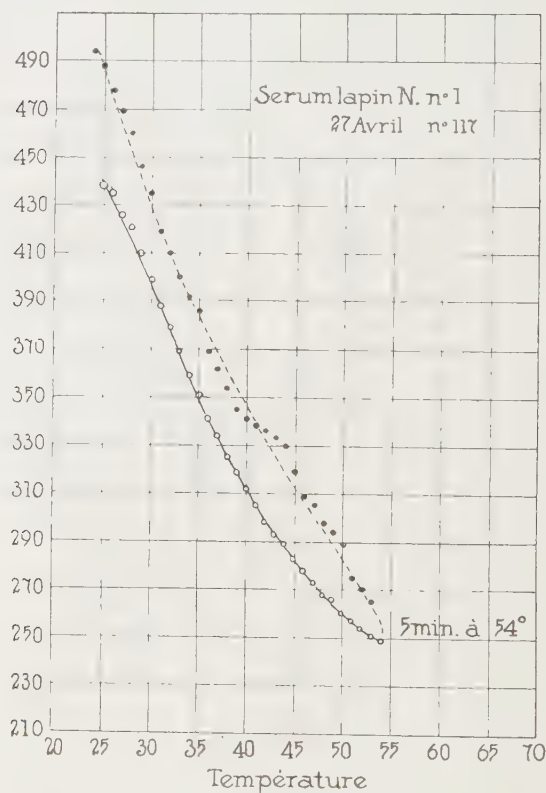


FIG. 9.

ment un décalage qui reste constant sur une grande étendue de la courbe. Ce fait se retrouve toujours.

Un chauffage prolongé à 50° (une heure) ne détermine encore aucun phénomène irréversible dans le sérum. La figure 5 le montre clairement. La viscosité moyenne est égale à 1.63 c'est-à-dire normale. Nous devons cependant signaler le fait suivant : dans le cas d'un sérum frais non chauffé au préalable

il arrive fréquemment que d'importantes fluctuations se produisent entre 40 et 55°; ces fluctuations sont parfois de grande amplitude, et toujours très brusques. Il semble que le plon-

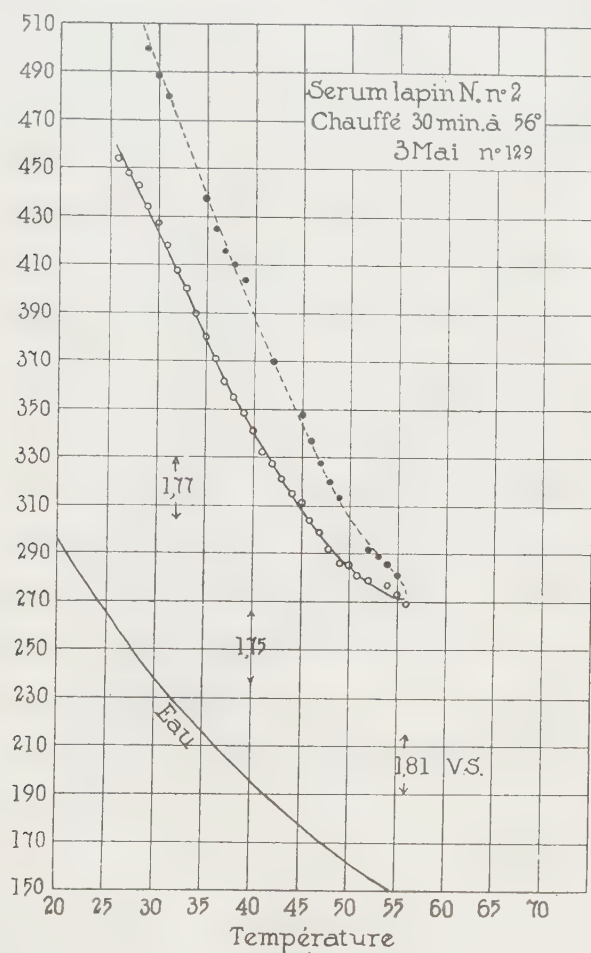


FIG. 10.

geur se trouve brusquement attaché au cylindre rotatif par un fil dénué d'élasticité, et que ce fil casse soudain après avoir fait franchir au spot 20 et 30 et même 50 divisions.

Ce phénomène ne s'est *jamais* produit dans nos expériences, lorsque le sérum avait été chauffé même à 55°.

Quinze minutes à 55° n'ont pas plus d'effet que dix (fig. 6).

Le phénomène est parfaitement réversible. La viscosité est légèrement diminuée dans l'ensemble et est de 1,55 en moyenne. Le sérum frais fut ensuite porté dans le viscosimètre jusqu'à 56° et maintenu à cette température pendant cinq minutes. La figure 7 montre le résultat de deux séries de mesures : l'une où le chauffage fut arrêté à 55° , l'autre à 56° , la première servant de contrôle. Ici nous voyons apparaître un

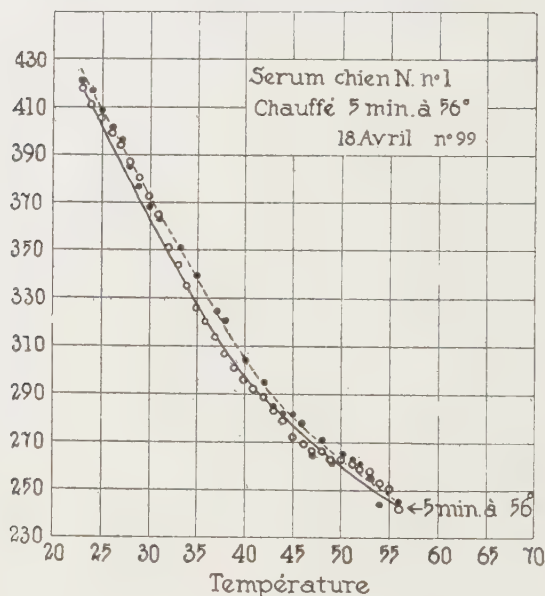


FIG. 11.

décalage faible, mais très net, entre la courbe de retour (températures décroissantes) à 55° et à 56° . La légère augmentation finale de viscosité du sérum chauffé à 55° peut être imputée à l'évaporation, mais celle du sérum chauffé à 56° , qui se manifeste tout le long de la courbe, ne peut être attribuée à la même cause : le phénomène n'est plus réversible, 56° est bien, pour ce sérum, une température critique. La viscosité spécifique atteint 1,70. Mais il faut tenir compte de l'évaporation. L'expérience répétée en chauffant le même sérum pendant quinze

minutes à 56° en tube scellé fournit la courbe de la figure 8. La viscosité moyenne est de 1,60. C'est donc une très faible augmentation; elle ne se produit d'ailleurs pas toujours, et l'on

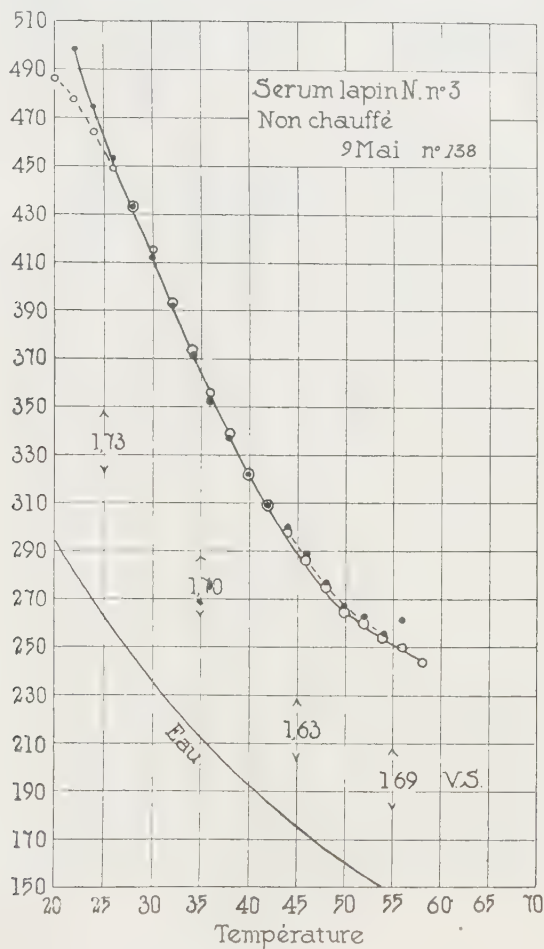


FIG. 12.

peut admettre que 56° est la température minima à laquelle un changement irréversible peut se produire en quinze minutes, sauf exceptions comme par exemple celle de la figure 9. Mais si le chauffage à 56° dure trente minutes l'altération devient plus frappante (fig. 10) nous voyons la viscosité moyenne monter à

1,77 pour les températures croissantes, et bien plus haut pour le retour.

La figure 11 montre que dans certains cas, cinq minutes de chauffage à 56° (sérum de chien) ne produisent pour ainsi dire aucune modification.

Un autre sérum dont la viscosité normale était d'ailleurs

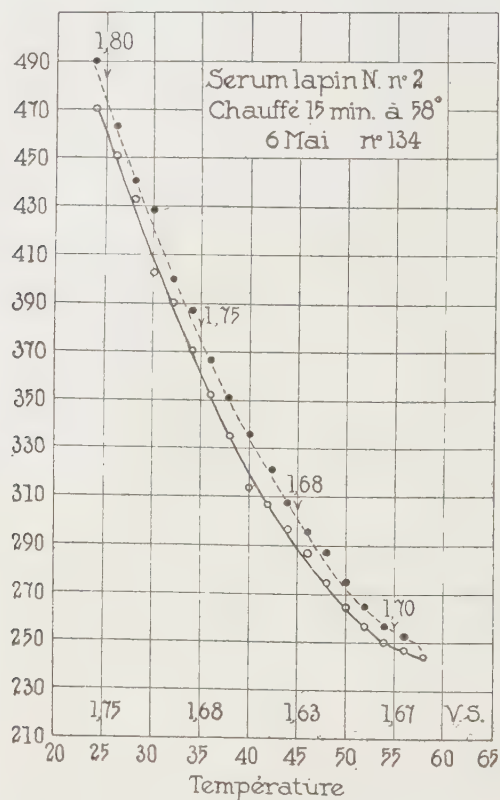


FIG. 13.

haute (fig. 12), chauffé jusqu'à 58° et refroidi aussitôt, ne montre aucun changement, mais le sérum de lapin n° 2 ($\eta = 1,63$), chauffé à 58° pendant quinze minutes, donna les courbes de la figure 13 et atteignit la valeur de $\eta = 1,80$. Une demi-heure à 58° amène la viscosité à une valeur moyenne de 1,95 (fig. 14).

Un autre sérum chauffé pendant une heure, puis pendant deux heures, à 58° voit sa viscosité atteindre la valeur de 1,85 en moyenne et 1,90 maximum (fig. 15).

Ce dernier sérum, chauffé à 60° pendant une heure, ne présente pas d'accroissement de viscosité par rapport au chauffage

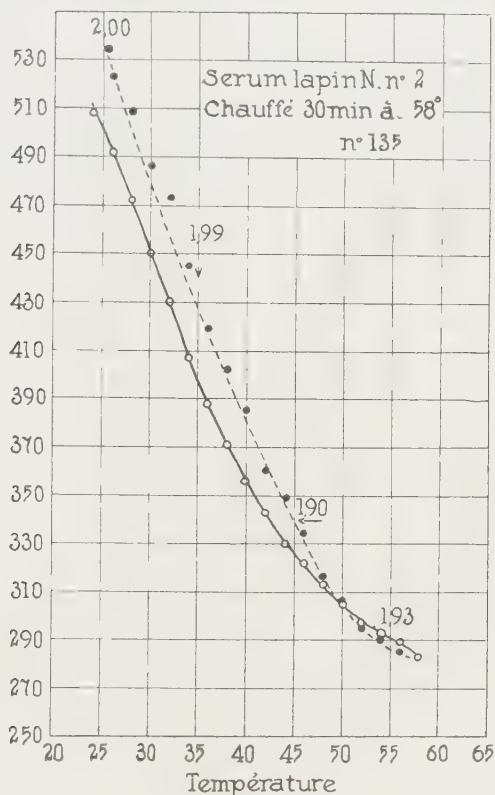


FIG. 14.

à 58° , mais en poussant jusqu'à 67° pendant quelques secondes et en refroidissant au moment où la viscosité commençait à monter (fig. 16) on constate un phénomène étrange : une diminution importante qui se maintient constante jusque vers 30° , suivie d'une coagulation instantanée.

La figure 17 exprime, pour un seul sérum, les résultats du chauffage pendant cinq minutes, à 57 , 59 , 60 et 62° . On voit

que si les courbes de descente (températures croissantes) coïncident à peu près tant que le sérum est frais, elles s'écartent progressivement, tout en restant sensiblement parallèles, au fur et à mesure que la température augmente. Mais il est clair que jusqu'à 62°, il n'y a qu'une augmentation permanente de viscosité, sans apparition de structure dans le liquide.

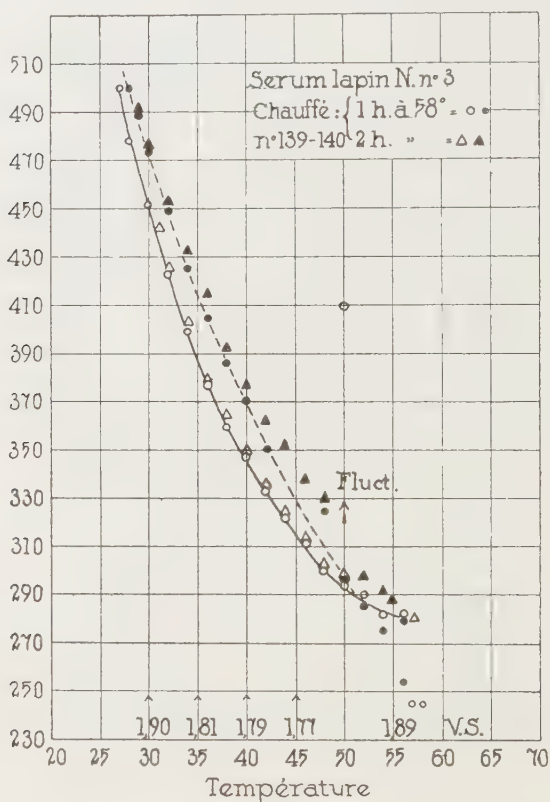


FIG. 15.

La figure 18 résume, pour le sérum d'un animal, toute une série d'observations, montrant quelles combinaisons de température et de temps déterminent une même élévation de viscosité.

La question se pose maintenant de savoir à quoi est dû cet accroissement de viscosité, et de quelle façon on peut l'interpréter.

III. — DISCUSSION ET INTERPRÉTATION.

On sait qu'Einstein a donné une équation (1) exprimant la

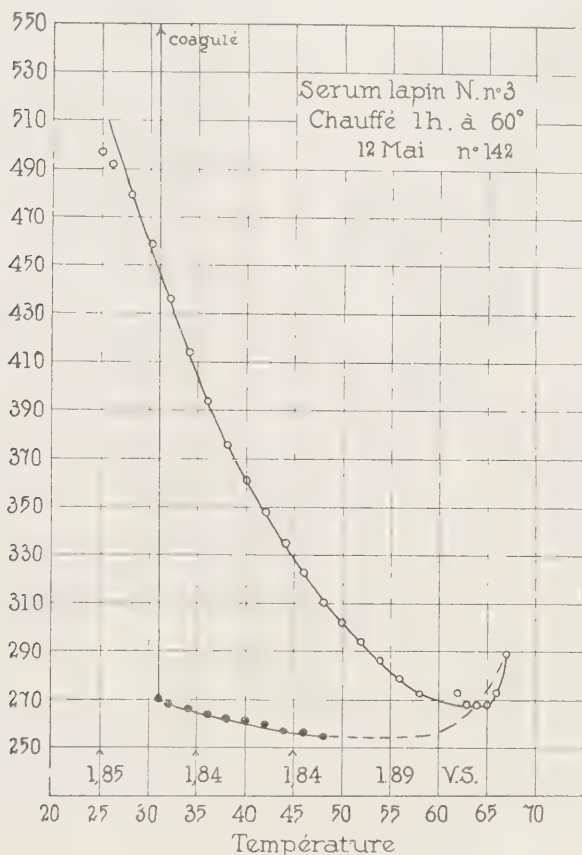


FIG. 16.

viscosité en fonction linéaire du volume de la substance dispersée par unité de volume du solvant. Elle s'écrit :

$$\eta = 1 + 2,5 p.$$

En appelant η la viscosité spécifique de la suspension et φ le

(1) EINSTEIN (A.). *Ann. Physik*, **19**, 1906, p. 289 et **34**, 1911, p. 591.

volume occupé par la substance dispersée, exprimé en fraction

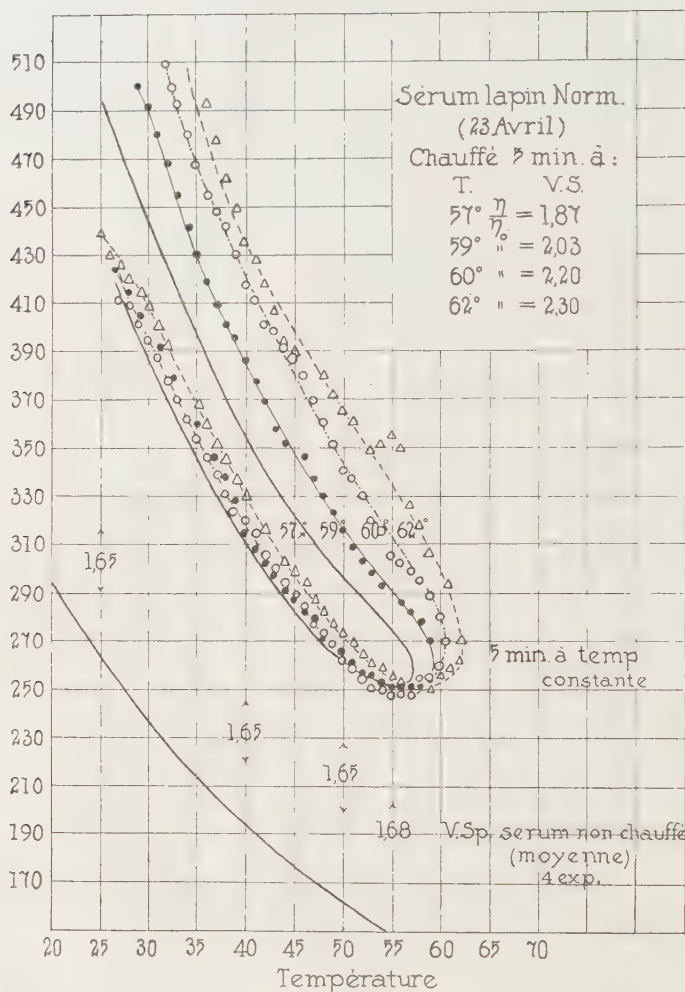


FIG. 17.

du volume total de la solution. Cette formule simplifiée est une approximation de l'expression :

$$\eta = \frac{1 + 0,5\varphi}{(1 + \varphi)^2} \quad (1)$$

Or, telle qu'elle est, cette équation ne s'applique qu'à des

solutions très diluées, et exige que les particules soient rigides et exactement sphériques. Elle n'est pas conforme aux faits

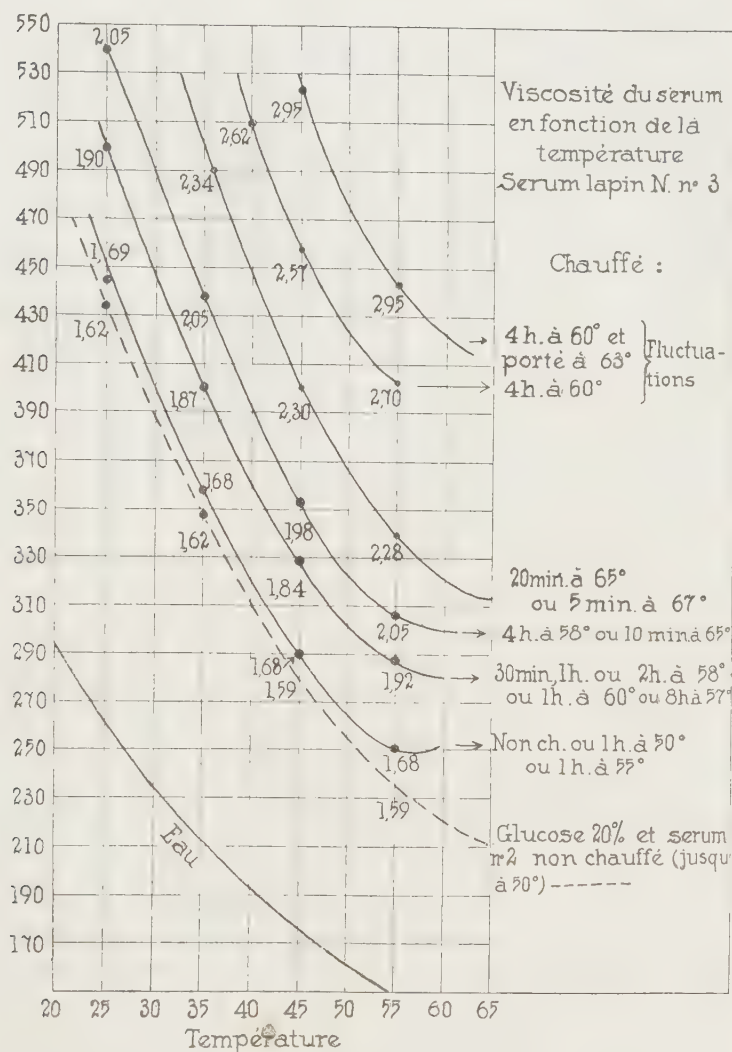


FIG. 18.

quand il s'agit de solutions lyophiles, ou lyophobes plus concentrées (voir : Freundlich, Kapillarchemie).

Mais Kunitz a proposé une autre formule, empirique (1)

$$\eta = \frac{1 + 0,5\varphi}{(1 - \varphi)^{\frac{1}{2}}}$$

qui rend compte des faits expérimentaux avec une grande exactitude, pour des concentrations quelconques. Cette formule présente un grand intérêt pour nous pour la raison suivante : nous avons mis en évidence l'augmentation progressive de la viscosité d'un sérum soumis à des températures croissantes pendant un temps constant. Or, si nous admettons avec Einstein et Kunitz que la viscosité d'un sol ne dépend pas de la dimension des particules en solution, mais du rapport des volumes de la phase dispersée à la phase liquide, et s'il est prouvé que l'équation de Kunitz s'applique à toutes les concentrations, même dans le cas de colloïdes hydrophiles (gélatine, caséine, etc.), nous possédons un moyen de calculer ce rapport dans le cas du sérum, c'est-à-dire de déterminer le degré d'hydratation des protéines de ce sérum.

En effet, la viscosité, d'après ces auteurs, ne peut augmenter que si les particules en solution fixent une certaine quantité du solvant : leur volume augmente donc (ce qui ne déterminerait pas d'accroissement de viscosité en soi), mais de plus, le volume du liquide dans lequel ils se trouvent diminue de la même quantité, et c'est la variation du rapport de ces deux quantités qui se manifeste par une augmentation de viscosité. Or, les calculs de Kunitz montrent que sa formule rend compte de façon très satisfaisante de l'accroissement de la viscosité en fonction du volume de la phase dissoute ou en suspension dans des cas très variés : sucres (concentrations de 1 à 25 p. 100), granules de soufre de différentes dimensions (de 10 μ à 100 μ) et à des concentrations de 1 à 48 p. 100 ; solutions de caoutchouc dans différents solvants, etc. Nous sommes donc autorisés à l'appliquer au cas du sérum, dont la concentration en protéines est d'environ 6,5 p. 100. Nous insistons encore une fois sur le fait que la formule d'Einstein sous la forme simplifiée qu'il lui a donnée : $\eta = 1 + 2,5 \varphi$ ne s'accorde pas avec les valeurs trouvées expérimentalement, mais donnent pour $\frac{\varphi}{c}$

(1) KUNITZ (M.). *Journ. Gen. Phys.*, 9, 1926, p. 745.

(rapport du volume de la phase dispersée pour cent du volume total, à la concentration en grammes pour cent de la solution) dans le cas du saccharose par exemple, des valeurs qui croissent en fonction de la concentration de 1,04 à 1,69, au lieu de la valeur observée, sensiblement constante, de 0,64. Il est clair que ce rapport $\frac{1}{C}$ exprime le volume spécifique de la substance dissoute; la formule de Kunitz donne pour le cas précité des valeurs variant entre 0,60 et 0,63 pour des concentrations variant entre 1 et 21,7 p. 100; le volume spécifique de ce sucre est donné par les tables comme égal à 0,63, et par Einstein comme égal à 0,61.

Le tableau ci-dessous donne le résultat des calculs effectués.

TABLEAU IV.

Viscosité du sérum de lapin n° 5 chauffé à différentes températures et résultats numériques des calculs effectués au moyen de l'équation de Kunitz (voir figures 17 et 18). Concentration moyenne du sérum en protéines = C = 6,5 p. 100 (1).

1	2	3	4	5	6	7
Viscosité spécifique	η p. 100	Volume spécifique p. 100	Volume spécifique des protéines sèches	Rapport des colonnes 5 et 4	Hydratation (p. 100, %) (accroissement du volume spécifique)	Accroissement de l'hydratation du au chauffage p. 100
1,63	10,7	1,613	0,783	2,09	109	Sérum non chauffé.
1,69	11,2	1,724	0,785	2,19	119	
1,88	13,3	2,030	"	2,58	158	
2,03	14,8	2,273	"	2,90	190	
2,30	17,2	2,650	"	3,37	237	
2,62	19,8	3,050	"	3,88	288	
2,95	21,8	3,350	"	4,27	327	

(1) Il est bien évident que les chiffres de ce tableau ne sont donnés qu'à titre d'exemple, et ne correspondent qu'à un sérum particulier, âgé de dix-huit heures, et provenant d'un animal donné. Ils ne sauraient en aucune façon être considérés comme ayant un caractère de généralité absolue, car il est probable que certains facteurs dont on n'a pas tenu compte ici, entrent en jeu pour déterminer le pouvoir d'hydratation des protéines du sérum. Néanmoins, le lecteur a pu se rendre compte par les exemples précédents que les chiffres varient relativement peu d'un échantillon à l'autre pris dans les mêmes conditions, et que par conséquent, ceux du tableau sont représentatifs d'un ordre de grandeur.

Dans la première colonne, se trouvent les viscosités relatives du sérum (se reporter à la figure). Dans la seconde se trouvent les valeurs de φ , c'est-à-dire le volume occupé par les protéines exprimé en pour cent du volume total de la solution. Ces valeurs sont calculées au moyen de la formule de Kunitz. Le volume spécifique dans la troisième colonne est évidemment égal à φ divisé par la concentration. Le volume spécifique des protéines sèches est égal (4^e colonne) à l'inverse de la densité, qui fut déterminée pour ce sérum par la méthode des solutions étalons de benzine et de chloroforme, et contrôlée par la méthode décrite précédemment (1). La 5^e colonne exprime l'accroissement du volume spécifique dû au fait que les protéines sont en solution (chiffre de la première ligne), puis l'accroissement de ce volume dû au chauffage.

La colonne 6 exprime cet accroissement en pourcentage, et la colonne 7 l'accroissement de ce pourcentage dû au chauffage, d'une expérience à l'autre.

Dans toutes les mesures faites à concentration variable, avec différentes substances, publiées par Kunitz, le volume spécifique (colonne 3) reste constant, dans de larges limites. Ici, nous voyons qu'au contraire, il n'en est rien. Les mesures sont faites à concentration constante, mais le volume spécifique augmente de façon presque linéaire avec la température. C'est ce phénomène qui détermine l'augmentation parallèle de la viscosité. Or, l'accroissement du volume spécifique des protéines en solution ne peut signifier, en admettant les conclusions d'Einstein, que l'augmentation du volume de la substance dissoute, au détriment du volume du solvant (puisque la concentration C est constante) c'est-à-dire une fixation d'eau sur les molécules, ou dans les micelles, une hydratation.

Mais d'autre part, l'équation d'Einstein ne permet pas de calculer les valeurs du volume spécifique des substances dissoutes ou en suspension et nous avons eu recours à une autre équation, celle de Kunitz, qui, étant empirique, n'entraîne peut-être pas les mêmes nécessités. En d'autres termes, l'accroissement du volume spécifique que nous pouvons ainsi calculer,

(1) DU NOUY (P. L.), A densimeter for the rapid determination of the specific gravity of small quantities of liquids and solids. *Journ. Gen. Phys.*, 74, 1927, p. 443.

est peut-être dû, pour une certaine part, à d'autres phénomènes que l'hydratation simple.

On peut donc admettre que les protéines du sérum chauffé jusqu'à 55°, même pendant une heure, ne s'hydratent pas plus qu'elles ne le sont normalement. Mais on ne peut encore affirmer de façon formelle que les chiffres portés dans la colonne 6 représentent quantitativement une augmentation due à l'hydratation seule. Par rapport aux protéines anhydres, les protéines, dans ce sérum, auraient une hydratation d'environ 120 p. 100 (en volume) [Colonne 6, première ligne]. Le chauffage à 57° augmenterait, d'après ces calculs, cette hydratation de 39 p. 100.

Il semble qu'on devrait tenir compte dans l'étude de la viscosité des colloïdes de la charge électrique des particules. Von Smoluchowski (1) en particulier, a étudié la question et a généralisé la formule d'Einstein en tenant compte de la conductivité spécifique λ , du rayon des particules r , de la constante diélectrique D et de la différence de potentiel électrocinétique ζ . La formule d'Einstein, écrite de la façon suivante :

$$\eta_s = \eta_m(1 + 2,5\varphi)$$

devient alors :

$$\eta_s = \eta_m \left\{ 1 + 2,5\varphi \left[\frac{4}{\lambda \eta_m r^2} \left(\frac{D\zeta}{2\pi} \right) \right] \right\}.$$

Nous n'en avons pas tenu compte parce que nos résultats expérimentaux sont en désaccord avec ce qu'on devrait attendre de cette formule. En effet, elle fait prévoir une diminution de la viscosité quand la dimension des particules augmente. Or, il n'y a guère de doute que le chauffage du sérum, qui aboutit à la coagulation, détermine un accroissement de la dimension des micelles, et nous constatons toujours une augmentation de viscosité. Ces questions sont excellemment discutées dans l'ouvrage de Freundlich, « Kapillarchemie ». Nous signalons en outre une intéressante Thèse (de Paris) de M. Marinisco (1927).

La figure 18 suggère encore une remarque : la courbe pointillée (viscosité 1,62 à 1,70) est celle obtenue avec une solution

(1) SMOLUCHOWSKI. *Kolloidzeitschr.*, 18. 1916, p. 194.

de sucre, dont la concentration est environ triple de celle du sérum (20 p. 100), mais dont le volume spécifique est trois fois moins grand et elle se confond presque sur toute sa longueur jusqu'à 55° avec celle du sérum. Le sérum se comporte donc exactement comme une solution vraie jusqu'au point critique de 55°, et il est surprenant de constater qu'une solution si concentrée de protéines puisse posséder une viscosité aussi basse. A volume spécifique égal, la viscosité du sérum dilué est bien inférieure à celle d'une solution de sucre.

Il n'est peut-être pas inutile d'ajouter que le plasma de lapin additionné d'héparine pour empêcher la coagulation, se comporte comme le sérum; sensiblement plus visqueux que celui-ci à 20° (environ 4,5 fois plus) l'écart diminue avec l'élévation de la température et à 58°, les viscosités sont presque égales.

L'indice de réfraction du sérum chauffé en tube clos ne varie pas en général, comme l'indique la table ci-dessous :

TABLEAU V. — Sérum normal de lapin n° 57 chauffé en vase clos (bouché à l'émeri).

	n_D	pH
Echantillon n° 1 chauffé à 55° pendant dix minutes.	1.3472	7,4
Echantillon n° 2 chauffé à 60° pendant dix minutes.	1.3472	7,4
Echantillon n° 3 chauffé à 65° pendant dix minutes.	1.3472	7,4
Echantillon n° 4 chauffé à 70° pendant dix minutes.	1.3472	7,4
Echantillon n° 5 non chauffé, témoin	1.3472	7,6

On voit par l'examen de la seconde colonne, que la légère modification du pH ne semble pas être fonction de la température.

SOMMAIRE.

L'étude de la viscosité du sérum sanguin en fonction de la température, effectuée au moyen d'un appareil nouveau, nous a permis de mettre en évidence les faits suivants :

1° La courbe représentant les variations de la viscosité présente un minimum absolu, situé vers 57°;

2° De part et d'autre de ce minimum, la viscosité augmente, mais bien plus rapidement du côté des températures croissantes;

3° Quand un sérum est chauffé jusqu'à 55° en vase clos sa viscosité n'est pas augmentée, même si le chauffage dure une heure;

4° En général, à partir de 56°, une augmentation de viscosité irréversible se produit, même si le chauffage à cette température ne dure que cinq minutes. Cependant, nous avons observé des exceptions;

5° Chaque degré d'élévation de température au-dessous de 56° correspond à une augmentation irréversible de la viscosité du sérum; la viscosité du sérum peut ainsi être presque triplée sans trace de coagulation;

6° En appliquant à ce phénomène les vues d'Einstein et de Kunitz et en employant la formule de ce dernier, nous avons calculé l'augmentation du volume spécifique des protéines en solution dans un sérum donné. En admettant que cette augmentation soit due, comme il semble logique de le croire, à la fixation d'eau sur les micelles protéiques, ces chiffres représentent l'hydratation des protéines aux différentes températures. A la température normale, et jusqu'à 55°, l'hydratation serait de 120 p. 100 environ.

PLASMODIUM DU CERCOPITHECUS CALLITRICHUS DE L'AFRIQUE OCCIDENTALE

par MARCEL LEGER (1).

Nous avons eu l'occasion à Dakar, durant les années 1922 et 1923, d'examiner le sang d'une soixantaine de singes, capturés en Guinée dans la région de Kindia, ou au Sénégal du côté de la Casamance. 4 d'entre eux étaient porteurs d'hémocytozoaires se rapportant au genre *Plasmodium*. Un cynocéphale, *Papio sphinx*, montra, au moment de sa mort, en petit nombre, des gamètes ayant les plus grandes ressemblances avec ceux de *Pl. Kochi* Laveran. Un *Cercopithecus Campbelli* était parasité par un hématozoaire intraglobulaire à caractères particuliers que nous avons précédemment fait connaître sous le nom de *Plasmodium Bouilliezi*. Chez deux *Cercopithecus callitrichus*, nous avons observé un parasite voisin du *Pl. Kochi*.

Des recherches multipliées ne nous ont permis de mettre en évidence aucune plasmodie chez *Troglodytes niger*, *Cercopithecus patas*, *Cerc. buttkoferi*.

*
* *

L'infection sanguine d'un *Cercopithecus callitrichus* a été suivie pendant huit mois; des frottis de sang du singe ont été pratiqués tous les jours, d'avril à septembre 1922.

La présence du *Plasmodium* dans la circulation périphérique est très irrégulière. Les gamètes et les schizontes apparaissent de temps en temps, tantôt isolément, tantôt simultanément, et disparaissent ensuite, d'ordinaire de façon brusque, sans que cette alternance, qui n'obéit à aucun rythme régulier, soit explicable.

(1) Travail de l'Institut de Biologie de Dakar et du laboratoire de Protozoologie de l'Institut Pasteur de Paris.

Les gamètes, en grand nombre du 19 au 23 avril (jusqu'à 3 et 4 par champ microscopique), deviennent rares les jours suivants et disparaissent du 27 avril au 8 mai. Ils réapparaissent les 9 et 10 mai, assez nombreux, puis, durant tout un mois, les frottis n'en contiennent qu'un petit nombre ou pas du tout.

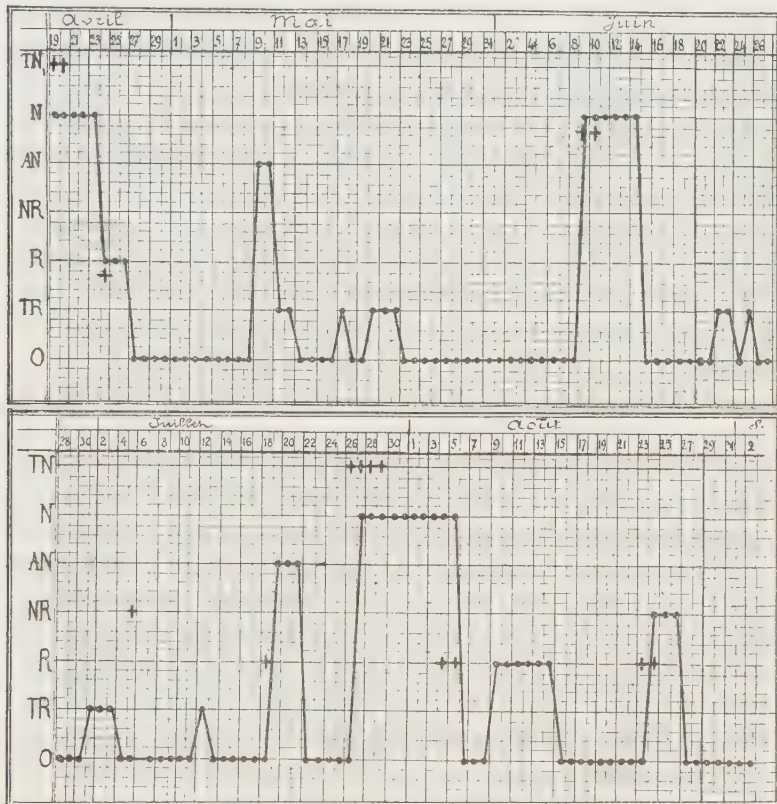


FIG. 1. — Tracé représentatif des examens journaliers du sang d'un *Cercopithecus callitrichus* : Schizontes + ; Gamètes ●.

TN, très nombreux ; N, nombreux ; AN, assez nombreux ; NR, non rares ; R, rares ; TR, très rares.

Nouvelle poussée de gamètes, nombreux, du 9 au 14 juin, suivie de la disparition complète ou à peu près complète jusqu'au 18 juillet. Réapparition pendant trois jours, du 19 au 21, suivie d'une éclipse du 22 au 26 juillet. Nouvel envahissement du

sang du 27 juillet au 5 août et, durant ce laps de temps, les gamètes sont nombreux. Le lendemain, disparition brusque et complète, qui persiste jusqu'au 8; du 9 août au 14 août, gamètes rares; aucune forme sexuée jusqu'au 23 août; à ce moment-là, apparition de nouveau des gamètes pendant trois jours.

Les schizontes, de leur côté, sont intermittents dans la circulation périphérique, sans qu'il y ait un cycle défini, ou une corrélation avec la présence des gamètes. On peut simplement affirmer que les éléments asexués sont présents moins souvent et restent moins longtemps visibles que les éléments sexués. Durant notre observation régulière d'avril à août 1922 (elle s'est poursuivie trois autres mois, mais non régulière), nous avons vu des schizontes, les 19 et 20 avril, très nombreux; le 24 avril, rares; les 9 et 10 juin, nombreux; le 5 juillet, non rares; le 18 juillet, assez rares; les 26, 27, 28 et 29 juillet, très nombreux; les 4 et 5 août, rares; les 23 et 24 août, rares.

L'infection naturelle chez *Cerc. callitrichus* ne se comporte aucunement comme l'infection expérimentale (1) par *Pl. inui* chez *Macacus cynomolgus*. Chez ce dernier, lorsque la maladie n'est pas aiguë, on observe à plusieurs reprises la disparition momentanée des hématozoaires. Ceux-ci, très rares au début, augmentent de nombre pendant quelques jours puis brusquement, ou après une période de diminution progressive, ils disparaissent de la circulation périphérique. Deux ou trois rechutes se produisent, avec des périodes intercalaires d'une semaine à un mois, et le nombre des parasites diminue chaque fois. Le macaque paraît alors débarrassé de ses parasites sanguicoles.

*
* *

Les hématozoaires du singe, que nous avons observés répondent aux caractères suivants :

Les SCHIZONTES, après coloration par la méthode de Romanowsky, et en particulier par le bleu Stévenel (2) au perman-

(1) M. LEGER et M. BOUILLIEZ : Recherches expérimentales sur *Plasmodium inui* d'un *Macacus cynomolgus*. Ces *Annales*, 27, n° 11, novembre 1913, p. 955.

(2) L. STÉVENEL : *Ann. Méd. et Pharm. Col.*, 1921, p. 207.

ganate de potasse, revêtent des aspects différents suivant leur stade de développement.

Les plus petits parasites, mesurant $1\mu 5$ à 2μ , sont annulaires, mais sans avoir l'aspect classique décrit chez les jeunes schizontes des Plasmodiums humains, l'aspect d'une bague avec son châton. C'est que le caryosome n'est pas constitué par un bloc plus ou moins arrondi de chromatine; il représente un boudin allongé, en bordure périphérique sur plus des deux tiers du parasite, et circonscrivant la vacuole nucléaire; celle-ci est limitée par ailleurs par un très court liséré protoplasmique bleu ciel.

L'hématozoaire est, le plus généralement, inclus au centre même du globule rouge. L'infection double d'une même hématie est exceptionnelle.

Nous n'avons pas surpris le stade épiglobulaire, le parasite étant encore simplement accolé à la cellule-hôte, comme la chose se voit fréquemment dans le paludisme à *Plasmodium præcox*.

Très rapidement, le *Plasmodium* du Cercopithèque devient amiboïde. Il montre alors une activité surprenante, lançant dans les divers sens des digitations extrêmement fines; il y a constitution d'une « toile d'araignée » véritable, comme dans le *Pl. tenue* Stephens.

Dans les schizontes adultes, le protoplasme n'est jamais compact; il se teinte toujours en bleu ciel, obscurci de place en place par une très fine poussière de pigment noirâtre. Le caryosome conserve son caractère de ne pas constituer une masse compacte et homogène. Il se montre sous les aspects les plus bigarrés: baguette bosselée se tordant pour pénétrer dans telle ou telle des digitations protoplasmiques, filament étiré en spirales gracieuses, haltère irrégulier, bandelette à nodosités, anneau brisé dont les extrémités en regard sont dilatées.

Ce n'est que dans les formes les plus avancées en développement que la chromatine a tendance à s'agglomérer et le protoplasma à se condenser; ce dernier présente toujours cependant une ou plusieurs échancrures profondes, vestiges de l'amiboïsme prononcé des stades précédents.

Nous n'avons pas surpris les phénomènes de division nucléaire, aboutissant à la schizogonie complète. Exception-

nellement, nous avons rencontré des parasites ayant 2, 3 ou 4 blocs de chromatine distincts. La schizogonie doit se produire, comme chez *Plasmodium præcox*, dans les organes, et seulement par exception dans la circulation périphérique. Reconnaissons cependant n'avoir mis en évidence aucune forme parasitaire spéciale par ponctions du foie et de la rate du singe, ponctions pratiquées le lendemain d'un jour où les hématozoaires avaient été rencontrés nombreux dans le sang périphérique.

Les globules rouges qui hébergent les schizontes ne sont pas hypertrophiés; quelques-uns d'entre eux sont de taille un peu supérieure à la normale; ce sont des macrocytes parasités, car les macrocytes sont loin d'être rares.

Nous n'avons jamais rien décelé, au cours de nos nombreux examens, qui rappelât les granulations de Schüffner ou les mouchetures de Maurer; nos méthodes de coloration nous permettaient cependant de mettre en évidence, de façon excellente et à coup sûr, les altérations protoplasmiques des hématies parasitées par *Pl. vivax* ou par *Pl. præcox*.

Les GAMÈTES sont souvent libres dans le plasma; leur taille peut alors dépasser très légèrement celle des globules rouges normaux. Mais lorsqu'ils sont encore intraglobulaires, les cellules-hôtes ne se laissent distendre que de manière tout à fait exceptionnelle. Les éléments sexuels femelles sont toujours beaucoup plus nombreux que les mâles.

Le *macrogamète* a un noyau relativement développé, constitué par un amas compact de gros grains chromatiques. La vacuole nucléaire est très apparente. Le cytoplasme est surchargé de grains pigmentaires nombreux, qui ne sont pas noirs, mais de couleur jaune brun; la coloration bleue du fond donne à ce pigment un reflet verdâtre.

Chez le *microgamétocyte*, la chromatine nucléaire n'est pas nettement délimitée et on ne décèle pas de vacuole nucléaire. Le pigment est de teinte plus claire que chez le macrogamète; il est jaune ocre ou doré; cette teinte est peu modifiée par la couleur simplement violacée du cytoplasma.

A l'état frais, les gamètes, mâles et femelles, sont faciles à percevoir et à distinguer les uns des autres par la teinte différente et l'abondance moindre du pigment chez les premiers.

Nous avons, à plusieurs reprises, cherché à surprendre l'exflagellation. Les microgamètes ont été vus facilement au cours de nos examens fin juillet et début août, alors que nous n'avions jamais pu les apercevoir au cours d'examens en avril, mai et juin. Nous rapprochons nos observations à Dakar de celles faites sur d'autres Plasmodiums de singes. A Hanoï, avec notre ami C. Mathis, *Plasmodium inui* de *Macacus rhesus* nous a permis souvent de voir les flagelles émis par les gamètes mâles. A Paris, au contraire, nos recherches faites avec M. Bouilliez, quelque patientes qu'elles fussent, ont toujours été négatives. *Plasmodium inui* de *Macacus cynomolgus*, injecté en série à de nombreux macaques, cercopithèques ou cynocéphales, n'a jamais laissé issir sous nos yeux les microgamètes. Il s'agit peut-être d'une question d'humidité naturelle de l'atmosphère : au Tonkin, comme au Sénégal au mois d'août, la température est chaude et très humide; en France, et aussi au Sénégal aux mois d'avril et mai, le degré hygrométrique est peu élevé.

*
* *

La température rectale de notre *Cercopithecus callitrichus* infecté a été prise deux fois par jour pendant plus d'un mois. Il est constant que l'animal présente de temps à autre des élévations thermiques, coïncidant avec l'apparition dans la circulation périphérique aussi bien des gamètes seuls que des schizontes associés aux éléments sexués. La fièvre n'est pas très élevée, oscillant autour de 39°. L'accès fébrile est de durée assez courte. Le début en est brusque, la terminaison également. Le singe ne paraît nullement incommodé.

Les recherches antérieures de divers auteurs pour déterminer l'influence du *Plasmodium* sur l'élévation de la température semblaient devoir faire admettre l'absence de toute fièvre chez les singes parasités (Kossel, Gonder et Berenber-Gossler). Avec C. Mathis, nous avons, à Hanoï, pris la température de nos *Macacus rhesus* ou *Macacus lasiotis tcheliensis* des mois entiers, sans observer autre chose que des ascensions thermiques irrégulières, durant les premières semaines de la maladie expérimentale, sans qu'il y ait aucune corrélation entre le degré

thermométrique et le nombre des plasmodies dans le sang périphérique.

De même, dans nos expérimentations à Paris avec M. Bouilliez, les animaux ne présentaient pas de fièvre, même lorsqu'ils succombaient en huit jours des suites d'un véritable accès pernicieux : envahissement d'un nombre très élevé de globules rouges par *Pl. inui* durant les dernières heures de la vie; à l'autopsie, hématies des capillaires du cerveau bourrées d'hématozoaires; infiltration pigmentaire abondante des divers organes. Pas de fièvre non plus, dans la forme chronique de l'infection expérimentale. Un *Macacus cynomolgus* fut suivi, à ce point de vue, pendant neuf semaines que dura la maladie. La courbe s'est maintenue assez régulièrement entre 36°8 et 37°1. Il fut noté six fois seulement, coïncidant, il faut le reconnaître, avec l'apparition des parasites dans la circulation périphérique, un degré thermique entre 37°5 et 37°8.

N'oublions pas de mentionner, cependant, que Martoglio, Stella et Carpano ont noté de la fièvre chez les *Cercopithecus sabæus* de l'Erythrée, qu'ils ont trouvés porteurs de *Plasmodium*.

Nos essais de transmission, par injection sous-cutanée de sang parasité, à des *Cercopithecus patas*, à des cynocéphales ou à d'autres callitriches, ont toujours échoué.

*
* *

Les hémocytozoaires du genre *Plasmodium* ne sont pas rares en Afrique. Ils ont été vus pour la première fois en 1899 par Robert Koch chez *Cercopithecus sabæus* de l'Afrique orientale et étudiés la même année par Kossel, chez le même cercopithèque et chez *Cynocephalus babuinus*. Laveran, dans le Livre jubilaire du cinquantenaire de la Société de Biologie, a dénommé le parasite *Plasmodium Kochi*.

Lühe en 1906 a classé dans la même espèce un hématozoaire intraglobulaire de *Troglodytes niger*, rencontré peu avant par Ziemann, au Cameroun. Il décrit les schizontes rencontrés : les jeunes rappelant beaucoup le *Plasmodium præcox*, les plus développés ayant des analogies avec *Pl. vivax* de l'Homme.

En 1908, Edm. Sergent trouva infecté un *Cercopithecus albo-*

gularis de la ménagerie de l'Institut Pasteur. Le réveil de l'infection plasmodiale aurait été sous la dépendance des traumatismes journaliers nécessités par la préhension de l'animal en expérience. Malgré des examens soigneux et prolongés du sang, les gamètes seuls ont été aperçus, gamètes à noyau très difficilement colorable, à pigment extrêmement fin et à couleur ocre, contenus dans des hématies non hypertrophiées.

La même année, Gonder et Berenberg-Gossler étudient à Hambourg le parasite d'un *Cercocebus fuliginosus*, espèce simiesque voisine des Cercopithèques, de la même famille des Cercopithécidées. Les schizontes ont beaucoup de ressemblances avec ceux de *Pl. vivax*, non seulement par leur aspect morphologique, mais aussi par la présence de granulations de Schüffner dans la cellule-hôte et également par l'hypertrophie de cette dernière. Le pigment est « brun jaune verdâtre. » Le cycle schizogonique a pu être suivi jusqu'à la formation de quatorze mérozoïtes; ce cycle a une durée assez élastique, variant de vingt-quatre à cinquante heures. Les gamètes possèdent du pigment brunâtre à grains assez gros et irréguliers chez la femelle, à grains plus fins chez le mâle. La transmission expérimentale, facile de *Cercocebus* à *Cercocebus*, ne semble pas avoir été essayée chez les Cercopithèques.

L'hématozoaire, décrit longuement en 1910 par Martoglio, Stella et Carpano, infectait des *Cercopithecus sabæus* d'Abyssinie. Les éléments sexués peuvent être nombreux dans le sang et les macrogamètes ont la particularité d'être souvent en parthénogénèse. Les schizontes, assez rares, ont des mouvements amiboïdes lents. D'après la description donnée, Sergent les rapproche de ceux du *Plasmodium præcox*. Le globule rouge envahi n'est jamais augmenté de volume.

Plimmer en 1912, au Jardin zoologique de Londres, a trouvé un hémocytozoaire chez *Cercopithecus sabæus* et, en 1916, chez *Cercopithecus æthiopicus*.

Cercopithecus callitrichus a été trouvé infecté par un *Plasmodium*, d'abord par C. Joyeux en Guinée (1913) qui a vu les gamètes en grand nombre (les mâles émettant facilement des flagelles) et de rares schizontes, puis par Marc Bouilliez au Moyen Chari (1916).

D'après la description de Bouilliez et les dessins qui l'accom-

pagnent, l'hémocytozoaire n'amène jamais l'hypertrophie de l'hématie envahie. Les gamètes ont du pigment à grains assez gros chez le mâle, à grains plus fins chez la femelle. Les schizontes, facilement rencontrés, sont amiboïdes; la pigmentation chez eux est inconstante, souvent n'apparaissant pas, même lorsqu'il y a déjà segmentation avancée du noyau. La schizogonie aboutit à la formation de huit mérozoïtes. Il n'y a jamais de granulations de Schüffner dans les cellules envahies par les éléments asexués ou les éléments sexués.

Bouilliez a noté la disparition brusque dans le sang, à certains moments impossibles à prévoir, des *Plasmodium*. Il n'a jamais pu transmettre l'infection à d'autres singes.

Les observateurs que nous venons de mentionner ont rapporté à *Plasmodium Kochi* (Laveran, 1899) les parasites trouvés par eux chez tous les singes d'Afrique. E. Marchoux a cependant, dès 1910, exprimé l'idée « qu'une étude plus approfondie amènera peut-être à scinder l'espèce en plusieurs autres ». Plus explicites, F. Mesnil et E. Roubaud sont d'avis en 1920 « qu'il n'est pas démontré que le *Plasmodium Kochi* soit le seul parasite des singes africains ».

Des coupures spécifiques se sont depuis produites et à juste titre.

Reichenow a fait connaître en 1920 un *Plasmodium* rencontré quelques années auparavant au Cameroun chez cinq chimpanzés et un gorille, *Plasmodium* qu'il considère comme tout à fait différent de *Plasmodium Kochi*. Certains schizontes rappellent absolument ceux de *Pl. præcox*; d'autres ont toutes analogies avec ceux de *Pl. vivax* ou de *Pl. malariae*. La schizogonie s'observe facilement dans le sang périphérique. Enfin, il existe des gamètes en croissants, qui caractérisent, on le sait, les parasites de la fièvre dite tropicale ou tierce maligne. Reichenow conclut donc, de façon ferme, que les Primates s'infectent par les mêmes espèces plasmodiales que l'Homme. Le microbiologiste allemand est d'avis que Ziemann et Lühe ont eu également affaire à une infection de *Troglodytes niger* par hématozoaires humains de la tierce bénigne et de la tierce maligne associés, et non, comme ils l'ont cru, à *Plasmodium Kochi*.

Blacklock et Adler en 1922 ont retrouvé au Sierra Leone,

chez le chimpanzé, le *Pl. præcox* var. *anthropoidis* de Reichenow, mais n'ayant pu ni infecter des jeunes *Troglodytes niger* avec du sang de paludéens à *Pl. præcox*, ni des hommes avec du sang de chimpanzés infectés, ils ont conclu qu'il s'agit d'une espèce plasmodiale particulière, qu'ils ont dénommée *Plasmodium Reichenowi*.

Nous avons également, en 1922, nettement différencié du *Plasmodium Kochi* un hémocytozoaire trouvé chez *Cercopithecus Campbelli* de la Guinée. Nous l'avons fait connaître sous le nom de *Plasmodium Bouilliezi*.

Les gamètes déterminent l'hypertrophie de la cellule-hôte. Les éléments femelles ont un noyau vésiculeux incolore de $2\ \mu$ 50 en général et le caryosome, très compact, est remarquable par sa petitesse; le pigment est à grains gros et tassés, uniformément répandus, de teinte vert olivâtre. Les éléments mâles ont un noyau diffus, avec corpuseules plus chargés en chromatine, à un des pôles ou au centre; le pigment, à grains disséminés, est de couleur jaune dorée.

Les schizontes sont plus rares que les gamètes. Les jeunes parasites ont la forme ovale allongée, avec une extrémité arrondie et une autre effilée, dans laquelle se loge le caryosome; la vésicule nucléaire est pour ainsi dire inexistante; le protoplasme est franchement bleu. Devenus adolescents, et mesurant $2\ \mu$ 5 à $3\ \mu$, les éléments asexués ne montrent jamais d'amiboïsme de leur protoplasma; le processus de division nucléaire s'exquisse déjà; le pigment est à grains rares, gros et bien noirs.

D'autres coupures spécifiques ne sont-elles pas encore à faire parmi les *Plasmodium* des singes africains, tous rapportés à *Plasmodium Kochi*. Nous y souscrivons volontiers. Et sans pouvoir donner un avis autorisé pour l'hématozoaire du *Cercocebus fuliginosus*, décrit par Gonder et Berenberg-Gossler, nous pensons que l'on ne doit pas inclure dans l'espèce *Kochi* le parasite du *Cercop. callitrichus*, tel qu'il résulte de la description de Bouilliez et de nos observations.

Plasmodium Kochi s'applique au parasite décrit par Kossel et par Edm. Sergent. Les gamètes seuls sont couramment rencontrés dans le sang périphérique. Ces éléments sexués, dont le noyau est très difficile à colorer aussi bien chez la femelle que chez le mâle, possèdent une pigmentation à grains extrê-

mement fins de couleur dorée. Ils n'entraînent aucune hypertrophie de la cellule envahie.

Le *Plasmodium* du *Cercopithecus callitrichus* laisse voir les schizontes, parfois en plus grand nombre que les gamètes; les éléments asexués se présentent aux divers stades de leur évolution, sans atteindre cependant, dans la circulation périphérique, la schizogonie complète. Ils sont extrêmement amiboïdes et leur pigment constitue une poussière noirâtre. Les gamètes n'entraînent aucune hypertrophie des globules rouges parasités. Chez la femelle, le noyau est fortement chromatique, le pigment très abondant, à gros grains irréguliers, de couleur brunâtre.

La coupure spécifique proposée s'appuie aussi sur la répartition géographique des espèces simiesques parasitées. En nous reportant aux renseignements fournis par de Pousargues dans son « Etude des mammifères du Congo français », nous voyons que les Cercopithécidés porteurs de *Plasmodium kochi* appartiennent à la faune de l'Afrique orientale. *Cercopithecus callitrichus* et *Cercopithecus Campbelli* sont au contraire des singes de l'Ouest africain. On comprend ainsi qu'ils puissent être parasités par des hémocytozoaires différents.

Nous proposons d'appeler le *Plasmodium* des Cercopithèques callitriches *Plasmodium Joyeuxi*, en l'honneur de C. Joyeux qui a, le premier, signalé le parasite en Guinée.

BIBLIOGRAPHIE

- KOSSEL, Ueber einem Malaria ähnlichen Blutparasiten beim Affen. *Zeit. f. Hyg.*, **37**, 1899.
- A. LAVERAN, Cinquantenaire de la Société de Biologie. *Livre jubilaire*, 1899, p. 127.
- LUHE et CARL MENSE. *Handbuch der Tropenkrankheiten*, **3**, 1906, p. 223.
- E. SERGENT, Un cas de réveil d'infection à hémocytozoaires chez un singe. *Bull. Soc. Path. exotique*, **1**, 1908, p. 187.
- R. GONDER et H. VON BERENBERG-GOSSLER, Untersuchungen über Malariaplasmodien der Affen. *Malaria*, **1**, 1908, p. 47.
- E. MARTOGGIO, V. STELLA et M. CARPANO, Su un plasmodio sella scimia. *Ann. Ig. Sper.*, **20**, 1910, p. 287.
- E. MARCHOUX et GRALL et CLARAC. *Traité Pathologie exotique*, **1**, 1910, p. 123.
- C. MATHIS et M. LEGER, Plasmodium des macaques du Tonkin. *Ces Annales*, **35**, 1911, p. 593. Recherches de parasitologie et de pathologie humaines et animales au Tonkin, 1911, p. 247-264, Masson.

- H. PLIMMER, On the blood parasites found in animals in the zoological Gardens. *Proc. Zool. Soc. of London*, 1922.
- M. LEGER et M. BOUILLIEZ, Sur un *Plasmodium* des singes. Passages par espèces variées. Action pathogène. *C. R. Soc. Biologie*, **73**, 1912, p. 310; recherches expérimentales sur *Plasmodium inui* d'un *Macacus cynomolgus*. *Ann. Institut Pasteur*, vingt-septième année, n° 11, novembre 1913, p. 933.
- C. JOYEUX, Note sur quelques protozoaires sanguicoles et intestinaux observés en Guinée française. *Bull. Soc. Pathologie exotique*, 1913, p. 612.
- M. BOUILLIEZ, Contribution à l'étude de quelques affections parasitaires au moyen Chari. *Bull. Soc. Path. exotique*, 1916, p. 161.
- F. MESNIL et E. ROUBAUD, Essais d'inoculation du paludisme au chimpanzé. *Ann. Inst. Pasteur*, **34**, juillet 1920, p. 466.
- E. REICHENOW, Ueber das Vorkommen der Malaria Parasiten des Menschen bei den afrikanischen Menschenaffen. *Centr. f. Bakt.*, I. Orig., **85**, 1920, p. 207.
- B. BLACKLOCK et S. ADLER, A Parasite resembling *Plasmodium falciparum* in a Chimpanzee. *Ann. of trop. Med. a. Paras.*, **16**, 1922, p. 99; a malaria parasite of the Chimpanzee, *idem*, **18**, 1924, p. 1.
- M. LEGER, *Plasmodium* d'un singe de la Guinée française, *Cercopithecus Campbelli*. *C. R. Soc. Biol.*, **86**, avril 1922, p. 837.

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES ET PROPHYLACTIQUES
DU PALUDISME
23^e, 24^e ET 25^e CAMPAGNES EN ALGÉRIE
EN 1924, 1925 ET 1926

par EDM. et ET. SERGENT, L. PARROT, H. FOLEY,
A. CATANEI et G. SENEVET

I. — ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

1924, 1925, 1926 : trois années pendant lesquelles le paludisme fut peu répandu et peu violent. Le virus paludéen a régressé d'une façon sensible sur tout le territoire algérien. On nota quelques petites recrudescences en certains points, dues à des causes locales, surtout en 1924 et en 1925.

On observe pourtant quelques cas graves, surtout en automne.

I. — Gîtes à Anophèles.

PLUIES. — Parmi les causes qui font varier d'une année à l'autre l'intensité de l'endémie palustre en Algérie, les plus importantes sont les conditions météorologiques.

Or, par suite de la rareté et du peu d'abondance des pluies, la nappe souterraine fut très basse pendant ces trois étés, et les gîtes à Anophèles furent considérablement réduits.

TEMPÉRATURE. — Pendant l'hiver 1925-1926, la température fut beaucoup plus élevée qu'elle ne l'est normalement durant cette saison : les Anophèles hivernéuses, réveillées par cette chaleur intempestive, effectuèrent leurs pontes dès les premiers jours de janvier dans la zone littorale ; fait exceptionnel, et qui n'avait pas été observé en Algérie depuis que les Anophèles y sont étudiés, c'est à-dire depuis vingt-sept ans.

PRÉVISIONS DES ÉPIDÉMIES. — Les pronostics que l'on a pu faire, au début de la saison chaude des trois années 1924, 1925, 1926, sur l'intensité et l'extension du paludisme en Algérie, ont été pleinement confirmés.

La sécheresse générale a permis de prévoir pour chaque été une épidémie peu intense. En 1925 pourtant, les pluies de printemps ont été fréquentes, mais elles ont été espacées, de sorte que les gîtes à Anophèles sont restés peu étendus.

La régression du paludisme pendant les trois années 1924, 1925, 1926 rappelle de semblables régressions observées en 1900, 1901, 1902, 1903 et en 1912, 1913, 1914. Il est bon de rappeler qu'à chacune de ces deux périodes de calme ont succédé de véritables explosions épidémiques (épidémies de 1904, 1905 et de 1915, 1916, 1917).

LA SÉCHERESSE, CAUSE INDIRECTE DE RECRUESCENCE DE PALUDISME. — Dans quelques localités, l'étendue des gîtes augmente par l'effet de la sécheresse : ce fait, qui paraît paradoxal, se produisit en 1924 à Bou Medfa et à Lavigerie, où, le débit d'un oued ayant diminué, les mares résiduelles devinrent plus nombreuses que d'ordinaire.

CAS OÙ LA MISE EN CULTURE DU SOL AUGMENTE LE PALUDISME. — Près d'Aïn-Taya, les cultures maraîchères nécessitent la construction de bassins-réservoirs pour l'irrigation. Ces bassins, le plus souvent maçonnés, sont rapidement envahis en été par des algues filamenteuses vertes, où les larves d'Anophèles trouvent un gîte très favorable, et sont dangereux pendant tout l'été. Au contraire, les gîtes naturels de la région, peu étendus (suintements, infiltrations dans les légères dépressions du sol) disparaissent au moment de la canicule.

ANOPHÈLES FEMELLES HIVERNEUSES. — E. Marchoux a émis l'hypothèse que, dans les pays au climat doux comme l'Algérie, les Anophèles se perpétuent en hiver non seulement par les femelles, mais aussi par les œufs pondus à la fin de l'automne. Des observations précises permettront de mesurer la résistance au froid des œufs des Anophèles algériens, mais la simple observation montre que, bien que les Anophèles femelles hiver-

neuses soient peu nombreuses en Algérie, la pullulation des larves au printemps peut très bien s'expliquer sans invoquer la persistance des œufs de l'automne précédent. D'autre part, dans l'immense majorité des cas, les gîtes à Anophèles des localités fiévreuses de l'Algérie sont constitués par des oueds à régime torrentiel en hiver; en été seulement se forme un cha-pelet de mares propices à l'évolution des larves. Dans ces conditions, il est impossible de s'imaginer que les œufs pondus en automne ne sont pas inmanquablement entraînés jusqu'à la mer par le courant violent des crues d'hiver.

OBSERVATIONS SUR LES ANOPHÉLINES D'ALGÉRIE.

A Bou-Sâada, oasis des steppes de la cuvette du Chott du Hodna (Dr Ebert), existe la variété d'*Anopheles hispaniola* (*Pyretophorus myzomyifacies*) qui avait été signalée dans la Mitidja (Baraki, Blida, Suffren), à Biskra et à Beni Ounif.

Caractères distinctifs : la tache située à la base de la fourche de la première nervure longitudinale est beaucoup plus petite que les taches correspondantes de la costale et de la sous-costale, et se trouve au niveau de l'extrémité apicale de ces taches de la costale et de la sous-costale.

II. — Réservoir de virus.

Nous mesurons l'intensité du paludisme d'une localité donnée par la recherche de l'index splénique, de la dimension moyenne des rates hypertrophiées, de l'index splénométrique et de l'index plasmodique. L'index splénométrique est obtenu en multipliant l'index splénique par la dimension moyenne des rates hypertrophiées. Le produit obtenu donne une indication plus précise de l'intensité du paludisme que l'index splénique seul.

LOCALISATION DU VIRUS. — On a souvent constaté que l'influence d'un gîte à anophèles est réduite à quelques centaines de mètres lorsqu'il s'agit d'une agglomération humaine importante; les anophèles, trouvant de la nourriture sanguine sur place, n'ont pas de tendance à s'éloigner; c'est ce qui a été

déjà observé à Arzew, à Djidjelli, à Oued el Alleug. Voici une nouvelle observation de ce fait :

Dans la Mitidja, le douar Ouled Ferah (commune de Maison-Carrée), peu important (une cinquantaine d'habitants), a ses gourbis répartis, depuis plusieurs années, en deux groupes aux abords d'un petit marais : le premier groupe, au bord même du gîte, a un index splénique de 40 p. 100. Le deuxième groupe, situé à 400 mètres seulement, ne montre qu'un index de 5 p. 100. Même dans ce cas d'une faible agglomération humaine, une distance de 400 mètres a suffi pour protéger en partie les habitants. Le premier groupe semble avoir servi d'écran protecteur au second. Rare exemple. D'ordinaire, les paludéens établis près d'un gîte à anophèles servent au contraire de réservoir de virus dangereux pour tout le voisinage, à une distance de 1.500 mètres à 2 kilomètres.

FIÈVRE BILIEUSE HÉMOGLOBINURIQUE.

Malgré l'atténuation générale du virus paludéen pendant la période étudiée, des cas de fièvre bilieuse hémoglobinurique sont encore signalés par les médecins algériens.

En 1924, au Fondouk, 1 cas (Dr Collignon); à Bouïra, 1 cas (Dr Prunier).

En 1926, 1 cas à Robertville (Dr Ciavaldini).

II. — ÉTUDES PROPHYLACTIQUES

Les méthodes de prophylaxie du paludisme ont été systématiquement appliquées par le Service antipaludique, en 1924, dans 60 localités; en 1925, dans 56; en 1926, dans 56, avec la collaboration des médecins de circonscription, du Service des Ponts et Chaussées, des instituteurs et institutrices.

A. — Collaboration des médecins de circonscription.

42 médecins en 1924, 43 en 1925, 38 en 1926 ont collaboré avec le Service antipaludique, en organisant et en surveillant la quininisation des indigènes effectuée par un agent quininisateur. De brefs rapports mensuels adressés au Service antipaludique mettent ce dernier au courant de la marche du service, et la comparaison des index endémiques relevés par

le médecin au début et à la fin de la campagne permet d'apprécier le résultat obtenu.

B. — Collaboration du Service des Ponts et Chaussées.

Dans 8 localités algériennes, le Service antipaludique, après entente avec les ingénieurs des circonscriptions, a donné les indications techniques aux agents locaux des Ponts et Chaussées, pour l'exécution de petites mesures antilarvaires aux frais du Service antipaludique.

C. — Collaboration des instituteurs et institutrices.

Grâce à la collaboration des instituteurs et institutrices des centres paludéens, le Service antipaludique a pu obtenir que les enfants européens soient quininisés d'une façon régulière, ce qui est très difficile à obtenir dans les familles. Cette quininisation à l'école est malheureusement interrompue pendant les mois les plus chauds de l'été; c'est pendant les mois de mai, juin, octobre et novembre que les écoliers sont soumis à la quininisation quotidienne.

En 1924, 50 instituteurs et institutrices ont ainsi collaboré; en 1925, 48 et en 1926, 52.

Quininisation.

11.000 personnes environ ont été quininisées en 1924, 12.000 en 1925, 13.500 en 1926, pendant cinq ou sept mois, suivant l'altitude des localités.

En 1924, le Service de quininisation comprenait 56 agents quininisateurs (dont 2 mutilés de guerre, 4 femmes et 6 indigènes auxiliaires médicaux ou agents de police); 53 rétribués par le Service antipaludique, 3 par les propriétaires des domaines protégés.

En 1925, on comptait 62 agents (dont 2 mutilés de guerre, 4 femmes, 6 indigènes auxiliaires médicaux ou agents de

police); 59 rétribués par le Service antipaludique, 1 par le Service des travaux de colonisation, 2 par les particuliers.

En 1926, la quininisation à domicile a été effectuée par 56 agents (dont 6 femmes et 8 indigènes, auxiliaires médicaux ou agents de police); 53 rétribués par le Service antipaludique, 2 par les particuliers.

De plus, comme il a été dit plus haut, la quininisation à l'école a été effectuée par les instituteurs et institutrices.

Le Service antipaludique a utilisé en 1924 du chlorhydrate de quinine, et en 1925 et 1926, du monochlorhydrate, pour la prophylaxie. Les doses journalières sont celles qui, depuis 1916, ont été reconnues préférables : pour les adultes : 40 centigrammes; pour les enfants de quatre à douze ans : 20 centigrammes; pour les enfants en bas âge : de 5 à 15 centigrammes. Dans les localités où la quininisation quotidienne n'était pas possible, elle a été effectuée tous les deux ou trois jours; la dose était de 60 centigrammes par adulte; dose proportionnelle pour les enfants.

La quininisation est effectuée pendant cinq mois (du 1^{er} juin au 31 octobre) sur les hauts plateaux (à partir de 650 mètres d'altitude); pendant sept mois (du 1^{er} mai au 30 novembre), sur le littoral.

La quinine est employée par le Service antipaludique sous la forme de dragées contenant 20 centigrammes de monochlorhydrate de quinine enrobés dans 30 centigrammes de sucre, et, pour les enfants en bas âge, de chocolatinnes contenant 5 centigrammes de sulfate en 1926, de bichlorhydrate en 1925, de monochlorhydrate en 1926 (modèles italiens).

QUININE DISTRIBUÉE :

1° *Dragées.*

En 1924, 290 kilogr. 800 de sulfate, en 727 kilogrammes de dragées : 1.451.000 dragées.

En 1925, 292 kilogrammes de bichlorhydrate, en 730 kilogrammes de dragées : 1.460.000 dragées.

En 1926, 3 kilogr. 400 de monochlorhydrate, en 751 kilogrammes de dragées : 1.502.000 dragées.

2° *Chocolatines.*

En 1924, 11 kilogr. 413 de sulfate, en 685 kilogrammes de chocolatines : 228.310 chocolatines.

En 1925, 10 kilogr. 375 de bichlorhydrate, en 635 kilogrammes de chocolatines : 211.435 chocolatines.

En 1926, 6 kilogrammes de monochlorhydrate, en 360 kilogrammes de chocolatines : 120 000 chocolatines.

La quininisation préventive a été pratiquée chez les agents des chemins de fer algériens du P.-L.-M., au nombre de un millier environ, chacune des trois années, sous la direction du médecin-chef le D^r Murat.

L'action sur le paludisme des succédanés de la quinine (cinchonine, cinchonidine, extrait de marrube, salicine, extrait d'aphloya), a été étudiée sur une centaine d'enfants indigènes paludéens de la Mitidja. Le stovarsol a été expérimenté chez 14 enfants indigènes de Beni Ounif de Figuig.

Petites mesures antilarvaires.

Elles sont le complément indispensable des grands travaux d'assainissement. Elles ont été appliquées, en 1924, sur 66 kilomètres de gîtes à Anophèles, en 1925 et en 1926 sur 60 kilomètres, à Montebello, Arthur, Reghaïa, Suffren, Sarcouf, Tourville, Sainte-Léonie, Bouhanifia, Redjas, Taher, Mondovi, Penthievre et Robertville.

Elles sont exécutées soit par le service antipaludique seul, soit avec la collaboration des ponts et chaussées et des communes.

Des procédés nouveaux ont été expérimentés : aspersion, à la surface des eaux, de *poudres larvicides*, le trioxyméthylène et le vert de Schweinfürth (acétoarsénite de cuivre); apports de *poissons larvicides*, les gambouses (*Gambusia affinis*).

I. — Campagnes antipaludiques (en 1924, 1925 et 1926).

1° DÉPARTEMENT D'ALGER.

Quininiisation et mesures antilarvaires : Arthur, Birtouta, Montebello, Reghaïa, Suffren, Surcouf, Tablat.

Quininiisation : Alma, Attaïba, 4 douars de Birtouta, Boghni, Bouïra, Gou-raya, Camp du Maréchal, Dupleix, Fondouk, Haroua, Kandoury, région de l'oued Bacora à Fort-de-l'Eau; Oued el Alleug, Pont du Caïd, Reghaïa région de l'embouchure de la Reghaïa, Saint-Pierre, Saint-Paul.

2° DÉPARTEMENT D'ORAN.

Quininiisation et mesures antilarvaires : Tourville, Sainte-Léonie.

Quininiisation : Abdellys, Aïn Tédèlès, Bouhanifia, de Malherbe, Dublineau, Ferme-Blanche, Henri-Huc, Hillil, Slissen, Sonis, Tirman.

3° DÉPARTEMENT DE CONSTANTINE.

Quininiisation et mesures antilarvaires : Mondovi, Penthièvre, Robertville, Redjas, Taher, Batna (3 quartiers).

Quininiisation : Aïn M'Lila, Bled-Gaffar, Djémila, El Hannser, Fedj-Mzala, Jemmapes, Kroubs, Mac-Mahon, Nechmeya, Petit, Robertville, Seraghna, Saint-Joseph, Tixter.

Dans les *Territoires du sud*, le médecin militaire de chaque poste fiévreux dirige la campagne antipaludique.

Le service antipaludique marocain fonctionne en liaison avec le service antipaludique algérien.

ENQUÊTES. — En 1924, 1925 et 1926, le service antipaludique a effectué 43 enquêtes, dans les 3 départements, demandées par le service de la colonisation, le service des forêts, le service des ponts et chaussées, des communes, des médecins ou des particuliers.

III. — ENSEIGNEMENT

Les méthodes de prophylaxie palustre sont enseignées par des conférences aux médecins de colonisation, aux médecins militaires des territoires du sud, aux étudiants de la Faculté

d'Alger, aux instituteurs et institutrices, aux Croix-Rouge (S. B. M.), aux écoles primaires, avec projection de films, de clichés, distribution de rapports, d'affiches et de tracts.

Trois nouveaux tracts ont été édités. Ils ont pour titre :

- 1° La quinine contre le paludisme;
- 2° De l'emploi de la quinine contre le paludisme;
- 3° L'hydraulique et le paludisme.

RÉSULTATS DE LA PROPHYLAXIE

Les statistiques précises des cas de première invasion signalés par des médecins manquent en Algérie. La comparaison des index endémiques relevés au début et à la fin des campagnes permet de se rendre compte des résultats obtenus.

Dans les localités palustres non traitées, on voit normalement le chiffre de ces index s'élever du printemps à l'automne; au contraire, dans les localités traitées, cet index subit aux mêmes époques une diminution très sensible. Dans plusieurs localités on a obtenu ainsi, en quelques années, l'amendement du réservoir de virus, ce qui réduit les risques de contamination. Dans ces régions, on voit le chiffre de l'index se maintenir très bas et le médecin de la circonscription déclare ne plus constater de cas de première invasion.

De 1924 à 1926 l'assainissement de 8 villages a été achevé. La campagne antipaludique a duré à l'Ilillil huit ans, à Brazza dix-huit ans, à Clinchant six ans, à Vauban cinq ans, dans deux douars de la commune de Birtouta deux et quatre ans, à Sonis trois ans.

Dans une cinquantaine d'autres localités traitées, l'index baisse d'année en année et le nombre des cas de paludisme de première invasion diminue peu à peu.

LA FORMULE LEUCOCYTAIRE DU SANG DES CHENILLES NORMALES ET IMMUNISÉES DE *GALLERIA MELLONELLA*

par JORU TATEIWA.

D'après les travaux de Métalnikov (1), on sait que l'introduction de substances quelconques étrangères, inertes ou microbiologiques, dans la cavité générale de la mite des abeilles (*Galleria mellonella*), y provoque une brusque réaction de toutes les cellules mobiles du sang, c'est-à-dire des leucocytes, des proleucocytes et des lymphocytes. Chaque substance, chaque microbe injectés dans le sang, provoquent toute une série des réactions spécifiques.

Suivant le conseil du professeur Métalnikov, nous avons entrepris une étude spéciale sur la modification de la formule leucocytaire du sang chez la chenille (*Galleria mellonella*) normale et immunisée, injectée par les microbes virulents ou non virulents.

Comme on le sait, les variations leucocytaires dépendent de la température, de l'âge de la chenille, de son état physiologique, et de la qualité et de la quantité des substances injectées. Nous avons donc soigneusement fait toute une série d'expériences avec les méthodes suivantes : nous avons préféré choisir des chenilles sept-huit jours avant qu'elles ne commencent à faire leurs cocons, pour toutes les expériences, et les chenilles ont été exposées à la température de 37°, pendant toute la durée de l'expérience. Ayant examiné le sang des chenilles et compté les nombres de chaque élément sanguin des deux chenilles aux intervalles de temps précis, nous avons pris leur moyenne comme résultat. L'injection des microbes aux che-

(1) Ces *Annales*, 39, 1925, p. 22.

nilles et le prélèvement du sang des chenilles ont été exécutés d'après la technique de Métalnikov (1). Les frottis du sang ont été fixés cinq à huit minutes par le colorant May-Grünwald, et colorés pendant deux ou vingt heures par le panchrome Pappenheim dilué. Les microbes, que l'on a injectés dans le corps des chenilles, ou avec lesquels on a fait le vaccin, ont été cultivés sur gélose, à 37°, pendant vingt-quatre heures. Nous avons injecté aux chenilles les microbes virulents avec la dose minima mortelle.

1° CHENILLE NORMALE. — Tout d'abord, nous avons entrepris d'examiner si la formule leucocytaire du sang des chenilles normales est constante ou variable pendant sept-huit jours à la fin de la période du développement des chenilles. Nous avons choisi beaucoup de chenilles normales, et nous les avons partagées en deux parties, les unes étaient nourries, les autres privées de nourriture. De temps en temps, ayant tiré une goutte de sang, on l'examinait d'après la méthode mentionnée ci-dessus.

Voici quelques résultats des expériences :

Quantité d'éléments sanguins
chez les chenilles normales nourries.

	PREMIER JOUR	DEUXIÈME JOUR	TROISIÈME JOUR	QUATRIÈME JOUR	CINQUIÈME JOUR	SIXIÈME JOUR	SEPTIÈME JOUR	HUITIÈME JOUR	MOYENNE des 8 jours
Lymphocytes et pro-leucocytes	53,8	54,7	60,3	61,8	60,4	57,5	61,7	61,7	59,2
Leucocytes	37,3	36,0	32,3	32,4	31,5	35,0	33,3	30,0	33,5
Cellules sphéruleuses et cellules vides	7,5	8,1	6,1	2,9	7,2	5,0	4,2	5,8	5,9
Oenocytes	1,2	1,2	1,2	0,9	0,9	2,3	0,8	2,5	1,4

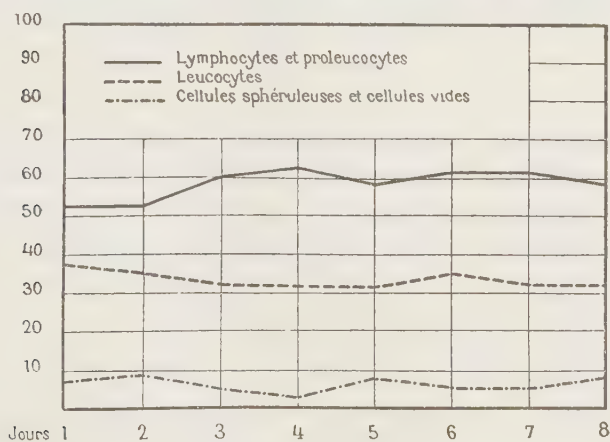
(1) Ces *Annales*, 34, 1920, p. 888 38, 39, p. 787 et p. 909.

**Quantité d'éléments sanguins
chez les chenilles normales non nourries.**

	DEUXIÈME JOUR	TROISIÈME JOUR	QUATRIÈME JOUR	CINQUIÈME JOUR	SIXIÈME JOUR	SEPTIÈME JOUR	HUITIÈME JOUR	NEUVIÈME JOUR	DIXIÈME JOUR	MOYENNE des 7 jours avant neuvième et dixième jours
Lymphocytes et pro- leucocytes	60,8	58,3	57,8	52,1	59,2	60,6	57,4	42,7	45,8	58,0
Leucocytes	34,0	35,7	34,3	40,2	33,3	32,4	32,2	45,3	42,6	34,6
Cellules sphéruleuses et cellules vides . .	4,1	4,3	6,9	6,8	6,7	5,5	7,8	10,7	9,3	6,0
Oenocytes	1,4	1,7	1,0	0,9	0,8	1,8	2,6	1,3	2,3	1,4

Comme on le voit sur le tableau et le graphique, chez les chenilles normales nourries pendant les huit derniers jours de

**Courbes montrant les variations des formules leucocytaires
chez les chenilles normales et nourries.**



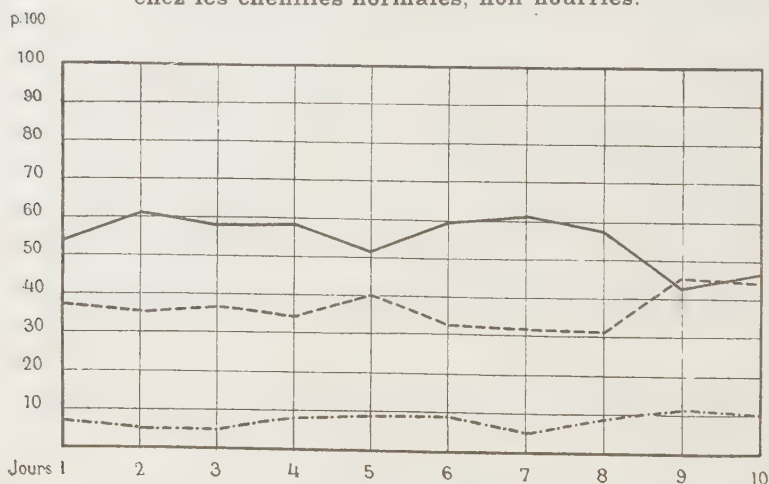
GRAPHIQUE I.

leur vie, les lymphocytes et les leucocytes varient entre 53°8 et 63°8, les leucocytes entre 30°0 et 37°5, les cellules sphéru-

leuses et les cellules vides entre 2°9 et 8°1, et œnocytes entre 0°8 et 2°5. On ne trouve donc qu'une légère variation à la formule leucocytaire qui est 52°2 aux lymphocytes et proleucocytes, 33°5 aux leucocytes, 5°9 aux cellules sphéruleuses et vides, 1°4 aux œnocytes, dans la moyenne des huit jours.

Les variations de la formule leucocytaire chez les chenilles

Courbes montrant les variations des formules leucocytaires chez les chenilles normales, non nourries.



GRAPHIQUE II.

non nourries sont presque les mêmes que chez les chenilles nourries, sauf les neuvième et dixième jours de leur jeûne; on constate qu'aux neuvième et dixième jours de leur jeûne elles sont presque mortes, et on trouve des changements non seulement dans l'aspect extérieur des leucocytes, mais aussi, à un certain degré dans la formule leucocytaire.

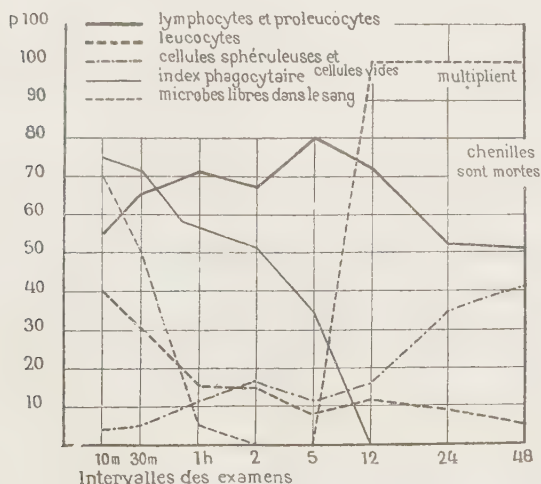
2 CHENILLE NORMALE ET MICROBE VIRULENT. — Ayant injecté une émulsion de microbe virulent aux chenilles normales, nous avons examiné la modification de la formule leucocytaire. Les œnocytes étant très peu nombreux dans le sang d'une chenille, nous ne les mentionnons pas. Voici quelques exemples :

Les chenilles reçoivent une émulsion diluée de *Bacterium*

**Quantité d'éléments sanguins
après l'injection *B. galleriæ* n° 3.**

	INTERVALLES DES EXAMENS							
	10 minutes	30 minutes	1 heure	2 heures	5 heures	12 heures	24 heures	48 heures (mort)
Lymphocytes et proleucocytes.	53,9	63,9	71,5	66,7	79,7	72,8	52,8	52,6
Leucocytes.	39,8	31,5	17,1	16,0	9,0	12,3	9,8	5,2
Cellules sphéruleuses et cellules vides. . . .	3,2	4,6	11,4	16,0	11,3	14,9	36,6	42,1
Index phagocytaire. . .	75,6	72,0	58,3	52,0	37,0	0	0	0
Bactéries libres dans le sang, p. 100.	70	50	5	0	0	Reparaissent.	Multiplient.	Multiplient.

**Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire
chez les chenilles ayant reçu une dose mortelle
d'un microbe virulent (*Bacterium galleriæ* n° 3).**



GRAPHIQUE III.

galleriæ n° 3 (1), c'est-à-dire, 1/80 de cent. cube d'une émulsion diluée qui contenait III gouttes d'émulsion épaisse dans 1 cent. cube d'eau physiologique. Vingt-quatre, quarante-huit heures après l'injection, les chenilles sont mortes. Résultats des expériences.

Les chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion diluée (III gouttes d'émulsion épaisse dans 1 cent. cube d'eau physiologique) du *Bacterium galleriæ* n° 1 (2). Vingt-quatre, quarante-huit heures après l'injection, les chenilles sont mortes. Résultats des expériences :

Quantité d'éléments sanguins
après l'injection de *B. galleriæ* n° 1.

	INTERVALLES DES EXAMENS							
	10 minutes	30 minutes	1 heure	2 heures	5 heures	12 heures	24 heures	48 heures (mort)
Lymphocytes et proleucocytes	61,9	63,1	71,9	68,3	68,3	65,6	68,0	65,4
Leucocytes	33,3	29,8	22,8	24,4	18,3	13,1	12,0	3,8
Cellules sphéruleuses et cellules vides	4,8	5,3	5,3	7,3	11,0	19,7	20,0	30,8
Index phagocytaire	0	0	0	0	0	0	0	0
Bactéries libres dans le sang, p. 100	100	100	100	100	100	100	Multiplient.	Multiplient.

Les chenilles reçoivent 1/160 de cent. cube d'une émulsion diluée (I goutte d'émulsion épaisse dans 1 cent. cube d'eau physiologique) du *Bacterium galleriæ* n° 2 (3). Vingt-quatre heures après l'injection, les chenilles sont mortes. Résultat des expériences :

(1) C. R. de l'Acad. des Sc., 1922, p. 68; Ces Annales, 41, 1927, p. 1114.

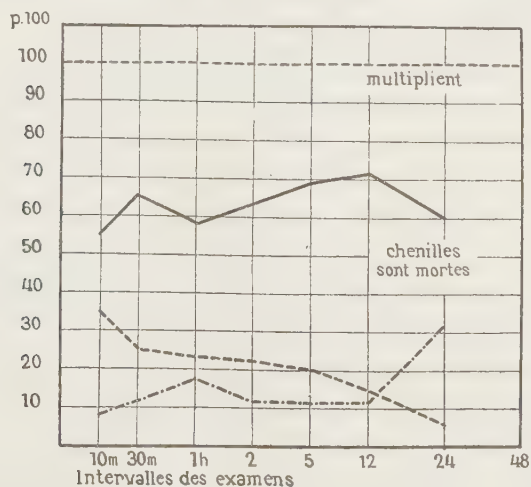
(2) Ces Annales, 41, 1927, p. 1114.

(3) Ces Annales, 41, 1927, p. 1114.

**Quantité d'éléments sanguins
après l'injection *B. galleriæ* n° 2.**

	INTERVALLES DES EXAMENS						
	10 minutes	30 minutes	1 heure	2 heures	5 heures	12 heures	24 heures (mort)
Lymphocytes et proleucocytes .	55,7	63,9	57,7	62,9	68,4	71,0	59,8
Leucocytes	35,1	21,6	23,1	22,7	19,6	15,0	6,9
Cellules sphéruleuses et cellules vides.	8,1	11,5	17,3	11,3	10,9	12,0	31,9
Index phagocytaire	0	0	0	0	0	0	0
Bactéries libres dans le sang, p. 100.	100	100	100	100	100	Multiplient.	Multiplient.

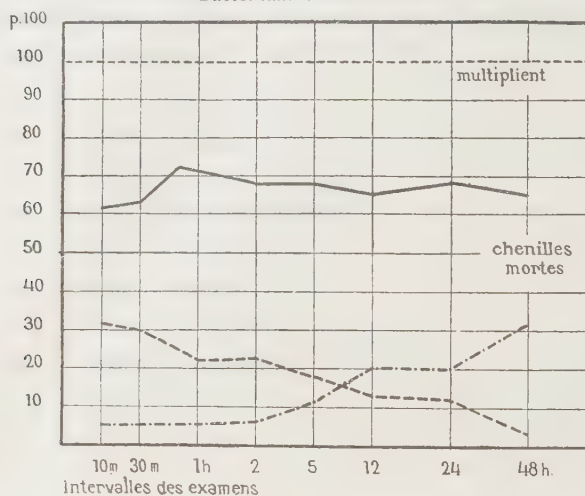
**Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire
chez les chenilles injectées par une dose mortelle
du *Bacterium galleriæ* n° 1.**



GRAPHIQUE IV.

Les chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une émulsion diluée (III gouttes d'émulsion épaisse dans 1 cent. cube d'eau

**Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire
chez la chenille qui a reçu une dose mortelle
du *Bacterium Galleriæ* n° 2.**



GRAPHIQUE V.

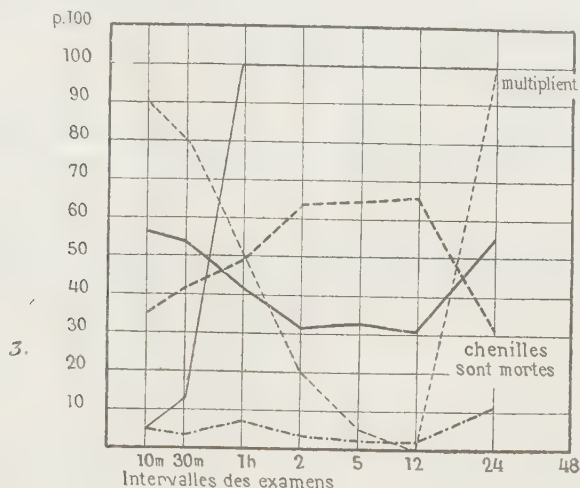
physiologique) du staphylocoque doré. Vingt-quatre, quarante-huit heures après l'injection, les chenilles sont mortes. Résultat des expériences :

**Quantité d'éléments sanguins
après l'injection de staphylocoque doré.**

	INTERVALLES DES EXAMENS						
	10 minutes	30 minutes	1 heure	2 heures	5 heures	12 heures	24 heures (mort)
Lymphocytes et proleucocytes	36,3	54,9	41,0	31,6	33,3	31,1	37,2
Leucocytes	36,5	41,6	49,6	63,6	64,1	67,1	30,5
Cellules sphéruleuses et cellules vides	5,3	3,4	7,6	3,4	4,6	4,3	11,3
Index phagocytaire.	5,2	13,7	100	100	100	100	100
Staphylocoques libres dans le sang, p. 100	90	80	50	20	5	0	Reparaissent et multiplient.

Ces résultats montrent que l'injection des microbes virulents provoque tout de suite les réactions de toutes les cellules sanguines qui tendent à rétablir l'équilibre, et aussi que, les modifications leucocytaires provoquées par chaque [microbe, ainsi que l'index phagocytaire et la condition des microbes libres dans le sang, ont un caractère spécifique qui est déjà constaté

Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire après l'injection de staphylocoque doré.



GRAPHIQUE VI.

par Métalnikov (1). Si, néanmoins, on cherche quelques traits typiques communs, on peut les trouver sur la réaction des cellules sphéruleuses dont le nombre augmente toujours dans le sang des chenilles immédiatement avant leur mort.

Comme Métalnikov (2) a déjà observé chez les chenilles infectées avec le *Bacterium galleriæ*, n° 2, on ne peut pas constater la phagocytose chez les chenilles qui étaient injectées avec ce microbe. Les microbes injectés se multiplient sans obstacle dans le corps des chenilles et toutes les chenilles meurent d'une septicémie aiguë. Nous avons observé le même phénomène, en injectant aux chenilles un autre microbe, beau-

(1) Ces Annales, 39, 1925, p. 22.

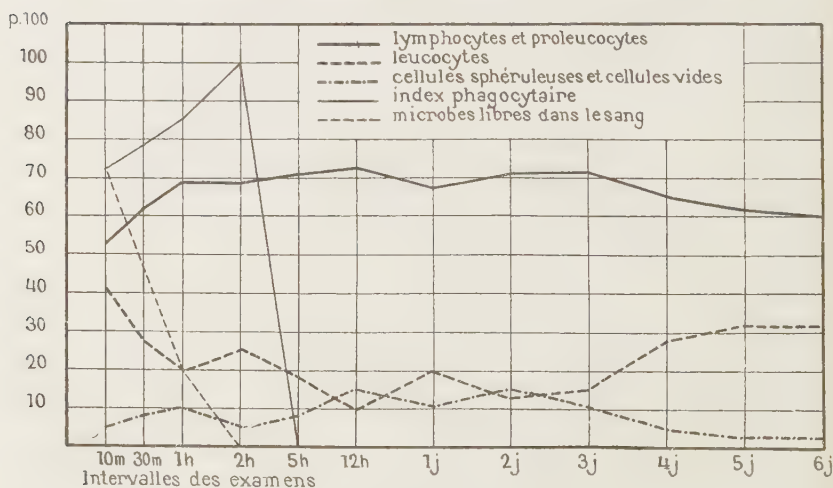
(2) Ces Annales, 38, 1926, p. 787.

coup moins virulent (*Bacterium galleriæ* n° 1) que le *Bacterium galleriæ* n° 2. Cependant, ce microbe n'est pas phagocyté et la chenille meurt d'une septicémie. Toutes nos tentatives d'immuniser les chenilles contre ces deux microbes, n'ont pas donné des résultats.

Au contraire, l'immunisation réussit très bien contre le troisième microbe, que M. Metalnikov a isolé des chenilles de *galleriæ mell.* (*Bacterium galleriæ*, n° 3.) Quoique ce microbe est aussi virulent *Bacterium galleriæ* n° 1, il est bien phagocyté par des leucocytes de la chenille. Peut-être, c'est la cause, pourquoi il peut servir comme vaccin.

3° CHENILLE NORMALE INJECTÉE PAR UN VACCIN. — Ayant injecté aux chenilles normales avec une émulsion de microbe non

Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire après l'injection de *Bacterium galleriæ* n° 3 chauffé à 60°.



GRAPHIQUE VII.

virulent ou le vaccin, nous avons examiné les modifications de la formule leucocytaire. Voici quelques exemples :

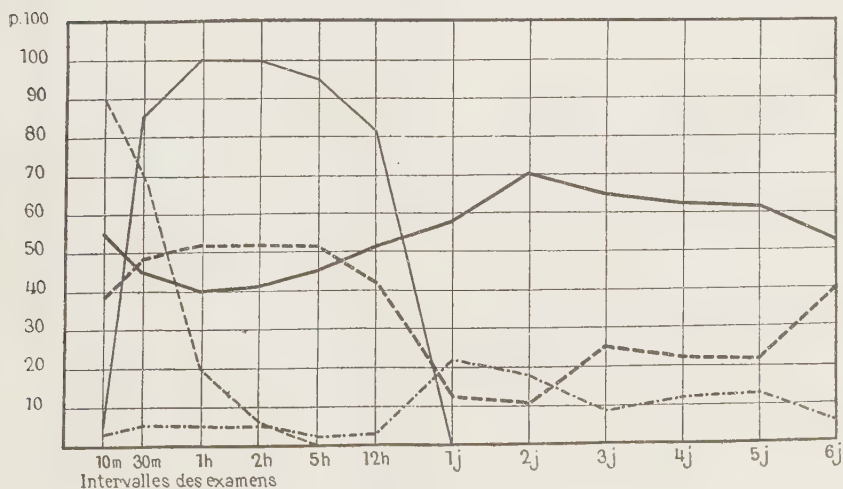
Les chenilles reçoivent 1/80 de centimètre cube d'une émulsion diluée (III gouttes d'émulsion épaisse dans 1 cent. cube d'eau physiologique), chauffée à 60° pendant une heure, de

Bacterium galleriæ n° 3. Après l'injection, toutes les chenilles sont vivantes et se transforment en chrysalides. Résultat des expériences :

Quantité d'éléments sanguins
après l'injection de *B. galleriæ* n° 3 chauffé.

	INTERVALLES DES EXAMENS											
	10 minutes	30 minutes	1 heure	2 heures	5 heures	12 heures	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours
Lymphocytes et proleucocytes.	53,6	63,6	69,3	68,0	70,9	73,8	67,7	71,5	72,0	66,9	62,7	60,1
Leucocytes . . .	41,1	28,6	20,5	25,0	18,5	10,3	20,0	13,9	16,0	27,7	33,7	34,5
Cellules sphéruleuses et cellules vides . .	4,4	7,8	9,4	6,0	8,7	15,9	11,5	13,8	12,0	5,5	2,7	4,5
Index phagocytaire . .	72,8	78,3	83,5	100	0	0	0	0	0	0	0	0
Bactéries libres dans le sang, p. 100.	70	50	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire après l'injection de staphylocoque blanc non virulent.



GRAPHIQUE VIII.

Les chenilles reçoivent 1/80 de centimètre cube d'une émulsion diluée (III gouttes d'émulsion épaisse dans 1 cent. cube d'eau physiologique) de staphylocoque blanc. Après l'injection toutes les chenilles sont vivantes et se transforment en chrysalides. Résultat des expériences :

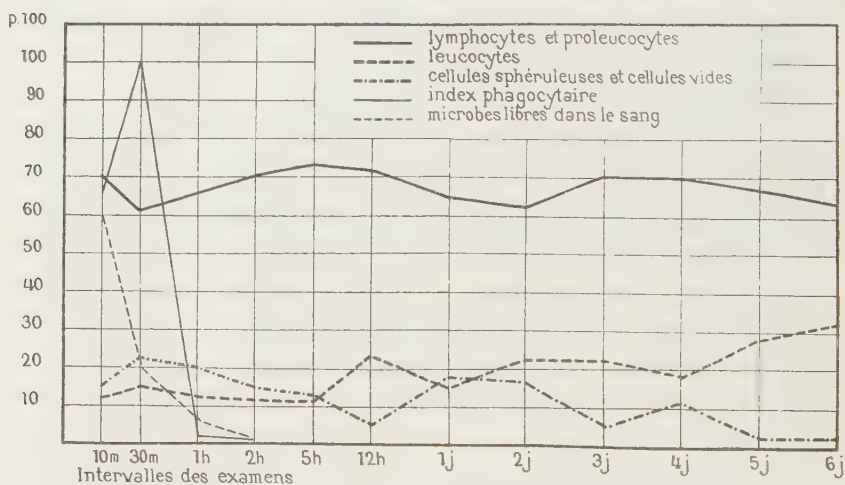
**Quantité d'éléments sanguins
après l'injection de staphylocoque blanc.**

	INTERVALLES DES EXAMENS											
	10 minutes	30 minutes	1 heure	2 heures	5 heures	12 heures	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours
Lymphocytes et proleucocytes.	55,9	44,2	42,3	42,2	44,5	52,4	59,2	70,9	64,6	62,3	61,6	52,6
Leucocytes . . .	39,0	49,5	50,9	51,5	52,3	43,1	43,6	9,7	25,5	23,3	22,9	40,7
Cellules sphéruleuses et cellules vides . .	3,8	5,6	5,8	5,4	2,7	4,2	23,4	18,5	9,4	12,4	14,5	5,9
Index phagocytaire . .	4,9	86,3	100	100	96,0	81,3	0	0	0	0	0	0
Staphylocoques libres dans le sang, p. 100. .	90	70	20	3	0	0	0	0	0	0	0	0

On peut constater que les réactions provoquées à la formule leucocytaire du sang dans ces deux exemples, non seulement sont bien différentes des réactions résultant de l'injection des microbes virulents, mais aussi que, mutuellement dans ces deux cas, la modification leucocytaire de l'injection aux microbes chauffés, diffère de celle de l'injection aux microbes non-virulents. D'ailleurs, ces résultats montrent que, en injectant aux chenilles les microbes non-virulents ou le vaccin, on trouve, cinq à six jours après l'injection, que la formule leucocytaire revient à l'état normal. Il est très intéressant de constater que les nombres des cellules sphéruleuses dans ces deux cas atteignent le maximum, immédiatement après que les microbes libres dans le sang ont disparu et que les

En examinant les résultats de l'injection réitérée des microbes aux chenilles qui ont déjà eu les réactions d'éléments sanguins par l'injection du vaccin, on peut constater que les réactions principales disparaissent vingt-quatre heures après l'injection, la formule leucocytaire modifiée reprend l'état normal six jours après l'injection, comme à l'injection du vaccin aux chenilles normales, et l'état des variations leucocytaires deux jours après la dernière injection est presque

Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire après l'injection aux chenilles immunisées de *Bacterium galleriæ* n° 3.



GRAPHIQUE IX.

parallèle à la modification de la formule leucocytaire deux jours après l'injection chez les chenilles normales injectées avec le vaccin seul. Tous ces phénomènes montrent que les réactions chez les chenilles immunisées sont plus rapides que chez les chenilles normales injectées non seulement de microbes virulents, mais aussi de vaccin ou de microbes non virulents. D'ailleurs, il est très intéressant de constater que la marche et la terminaison de la phagocytose chez les chenilles immunisées sont plus rapides que chez les chenilles normales.

J'exprime mes remerciements les plus respectueux à M. le professeur Métalnikov, qui a bien voulu me fournir le matériel, et qui a eu la bienveillance de me conseiller.

RECHERCHES SUR LA FERMENTATION DES HEXOSES RENDUS OPTIQUEMENT NEUTRES PAR LES ALCALIS DILUÉS

par A. FERNBACH, M. SCHOEN et MOTOHICHI MORI.

I

On sait que les sucres réducteurs subissent des modifications profondes sous l'influence de l'action des alcalis. Dans certaines conditions, la molécule tout entière se disloque et une foule de substances variées prennent naissance (1).

On a déjà souvent indiqué que cette dégradation présente des analogies frappantes avec le dédoublement des sucres dans les divers processus de fermentation (2). L'importance actuelle de ces analogies résulte surtout du fait qu'elles ne sont pas limitées aux produits ultimes, mais se retrouvent encore chez certains produits intermédiaires qu'on est parvenu à mettre en évidence dans ces dernières années (3).

Les ions OH provoquent ainsi de véritables ruptures de molécules, à l'instar de certaines *clastases* qui interviennent dans les divers processus de fermentation.

Lorsqu'on fait agir des alcalis très dilués sur les sucres réducteurs, on n'observe point la rupture de la molécule à laquelle il vient d'être fait allusion. Mais il se produit néanmoins un ébranlement profond de l'édifice moléculaire, ébranlement qui se traduit de diverses manières, et dont l'un des effets les plus remarquables se manifeste dans le phénomène

(1) J. U. NEF. Dissoziationsvorgänge in der Zuckergruppe. *Liebigs Annalen*, **374**, 1910, p. 109. Voir aussi : L. MICHAELIS et P. RONA. Ueber die Umlagerung der Glucose bei alkalischer Reaktion, ein Beitrag zur Theorie der Katalyse. *Biochem. Zeitschr.*, **67**, 1912, p. 447.

(2) E. DUCLAUX. Sur les analogies entre les procès de fermentation et de combustion solaire. *Ces Annales*, **7**, 1893, p. 752.

(3) A. FERNBACH et M. SCHOEN. Sur quelques produits de la décomposition du dextrose en milieu alcalin. *Ibidem*, **28**, 1914, p. 692.

de multirotation (1) que Simon (2), Tanret (3) et beaucoup d'autres auteurs attribuent à la liaison oxydique de la molécule de sucre.

La disparition de cette multirotation sous l'influence des ions OH est généralement attribuée à ce que les alcalis s'attaquent à cette liaison oxydique. Mais l'action des alcalis dilués peut aller encore plus loin et donner lieu à des transpositions moléculaires qui se traduisent par la diminution progressive du pouvoir rotatoire des solutions sucrées. Si l'action de l'alcali est suffisamment prolongée, la diminution de la rotation aboutit à la neutralité optique. Ce phénomène, découvert dès 1895 par Lobry de Bruyn et Van Ekenstein (4), a fait depuis l'objet de nombreuses recherches.

Faut-il admettre avec Em. Fischer (5), ainsi qu'avec Wohl et Neuberg (6) que la perte du pouvoir rotatoire est due à l'énolisation de la molécule de sucre donnant lieu à la formation d'un alcool non saturé de la formule : $R. C. (OH) : CH. OH$? Ou bien s'agit-il ici de la production transitoire d'un glucosate alcalin instable, comme le veut Groot (7)?

Quelle que soit l'explication à laquelle on s'arrête, il est évident que l'action de l'alcali n'affecte, dans le cas des aldoses, que le groupement alcool secondaire immédiatement voisin du groupement aldéhydique, ou bien, s'il s'agit de cétooses, le groupement cétonique et le groupement alcool primaire. On s'explique ainsi pourquoi les trois hexoses fermentescibles, le glucose, le mannose et le fructose, peuvent être transformés les uns dans les autres sous l'influence de l'action des alcalis,

(1) Y. OSAKA. Ueber die Birotation der d. Glukose. *Zeitschr. f. physikal. Chem.*, **35**, 1900, p. 661.

(2) L. J. SIMON. Sur la constitution du glucose. *C. R. Acad. des Sciences*, **132**, 1901, p. 487. Voir rectification. *Ibidem*, p. 596.

(3) C. TANRET. Sur les transformations des sucres à multirotation. *Bull. Soc. chim.* (3^e série), **33**, 1905, p. 337.

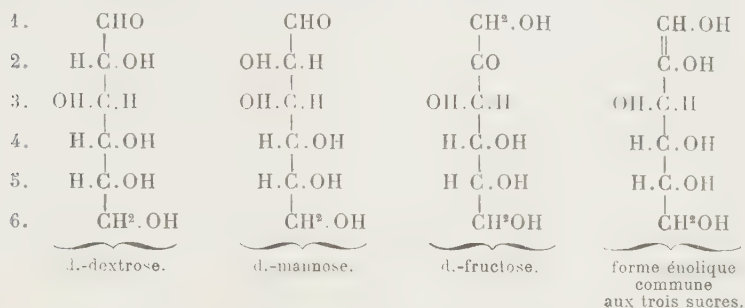
(4) C. A. LOBRY DE BRUYN et A. VAN EKENSTEIN. Einwirkung von Alkalien auf Kohlenhydrate. Wechselseitige Umwandlung von Glucose, Fructose und Mannose in einander. *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **28**, 1895, p. 3078. Voir aussi *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, **14**, pp. 78, 156, 302, et **16**, pp. 257, 262, 274.

(5) Emil. FISCHER. Ueber die Verbindungen der Zucker mit den Alkoholen und Ketonen. *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, **28**, 1895, p. 1145.

(6) A. WOHL et C. NEUBERG. Zur Kenntnis des Glycerinaldehyds. *Ibidem*, **33**, 1900, p. 3095.

(7) J. GROOT. Ueber das Verhalten von Zuckerarten in verdünnt alkalischer Lösung. *Biochem. Zeitschr.*, **146**, 1924, p. 72.

fait que Lobry de Bruyn et van Ekenstein ont signalés dès le début de leurs recherches. On sait, en effet, que ces hexoses ne diffèrent entre eux que par leurs groupements 1 et 2, l'orientation dans l'espace de leurs autres groupements étant la même, comme le montre le schéma simplifié ci-après :



Avant de pouvoir aborder l'étude du mécanisme profond des modifications moléculaires produites par l'action des alcalis sur les sucres, il faut se demander si la neutralité optique est due à la suppression *totale et définitive* de la rotation, ou bien si elle résulte d'un état d'équilibre des rotations opposées des sucres qui ont pris naissance. C'est la question à laquelle nous avons essayé de donner une réponse au début de notre étude.

II

Parmi les méthodes capables de conduire à une solution, nous avons pensé qu'il y avait intérêt à choisir la méthode biochimique. Il faut se rappeler que cette méthode a été employée pour la première fois par Pasteur dans ses recherches sur la fermentation de l'acide racémique et sur l'isolement de l'acide tartrique gauche (1).

Pasteur a utilisé le phénomène qu'on a étudié plus tard sous la dénomination de *fermentation élective*, et qui consiste dans ce fait que les deux isomères gauche et droit contenus

(1) L. PASTEUR. Mémoire sur la fermentation de l'acide tartrique., *C. R. Ac. des Sc.*, **46**, 1858, p. 615. Voir aussi *Œuvres de Pasteur* réunies par PASTEUR VALLERY-RADOT, **2**, p. 25. — Note relative au *Penicillium glaucum* et à la dissymétrie moléculaire des produits organiques naturels. *C. R. Acad. des Sc.*, **51**, 1860, p. 298. *Œuvres de Pasteur*, **2**, p. 129.

dans la substance inactive par compensation ne sont pas attaqués avec la même vitesse par un microorganisme déterminé. Il s'ensuit qu'à un moment donné de la fermentation, l'un des isomères se trouve en excès sur l'autre ou seul, et peut être isolé à l'état pur. Ainsi, par exemple, la grande majorité des levures, en agissant sur le sucre interverti, s'attaquent de préférence au glucose. Par suite, au cours de la fermentation, l'équilibre est rompu en faveur du lévulose et la rotation se déplace vers la gauche.

En conséquence, si les solutions de sucre traitées par l'alcali doivent leur neutralité optique à une compensation de rotations opposées, la fermentation par la levure doit aboutir à une rupture de l'équilibre optique. L'expérience montre qu'il en est bien ainsi.

Le premier stade de l'étude expérimentale consiste à préparer une solution sucrée optiquement neutre. Voici, à titre d'exemple, comment s'opère, à la température de 40°, la diminution progressive de la rotation d'une solution de glucose à 20 p. 100, additionnée de 8 p. 1000 de bicarbonate de sodium.

HEURES	ROTATION (en degrés d'arc)
0	+ 20°6'
19	+ 8°20'
41	+ 6°14'
69	+ 3°58'
89	+ 2°55'
134	+ 1°25'
161	+ 1°5'
206	+ 0°38'
254	0

La solution de glucose rendue ainsi optiquement neutre est additionnée de sels nutritifs et d'un extrait de touraillons; après avoir été diluée de manière à obtenir une solution de sucre à 8 p. 100, la solution est mise en fermentation avec une faible quantité d'une levure de bière de fermentation basse.

On voit d'après les chiffres consignés dans le tableau ci-après (tableau I), et mieux encore d'après la figure 1, où la marche du phénomène est représentée graphiquement, que dès que la fermentation se déclare, la solution devient optiquement active.

La rotation gauche qui apparaît d'abord s'accroît au fur et à mesure que la fermentation progresse pour diminuer ensuite;

TABLEAU I. — Solution de glucose fermentée par la levure de bière de fermentation basse.

HEURES	SUCRE (exprimé en glucose)			ALCOOL FORMÉ (en poids)		ROTATION (en degrés d'arc)
	Restant p. 100	Consommé p. 100	Consommé p. 100 de sucre offert	Grammes p. 100	p. 100 de sucre consommé	
0	8,18	0	—	0	0	0°
62	7,20	0,98	11,8	0,425	47,7	— 32'
86	5,64	2,54	31,03	0,125	44,2 (?)	— 1°
110	4,08	4,10	50,42	1,988	48,2	— 1° 7'
134	2,55	5,63	68,83	2,80	49,5	— 40'
158	1,85	6,33	77,39	3,20	50,2	+ 10'
182	1,67	6,51	79,59	3,27	50,2	+ 14'
206	1,52	6,66	81,40	3,35	50,2	+ 16'
230	1,52	6,66	81,40	3,35	50,2	+ 15'

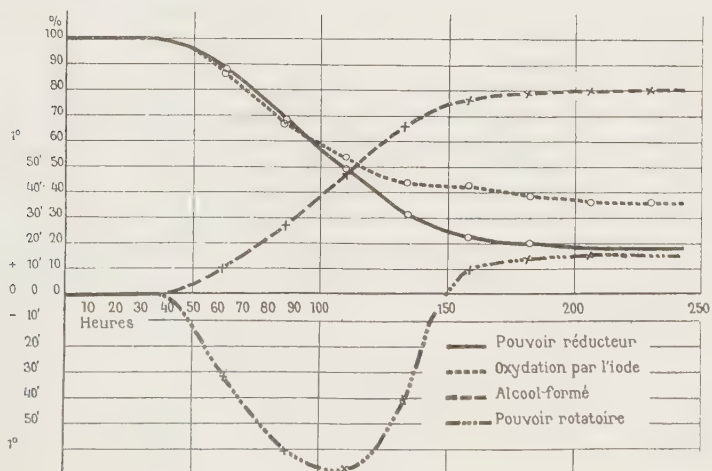


FIG. 4.

après quoi, elle passe à droite et atteint un certain maximum, qui se maintient constant, même après l'achèvement de la fermentation. Dans cette expérience, l'équilibre optique se

trouve donc rompu en faveur d'un sucre lévogyre dont la présence se révèle par la rotation gauche. Mais, à un moment donné de la fermentation, lorsque les trois quarts environ du

TABLEAU II. — **Solution de glucose**
fermentée par le *Schizosaccharomyces Pombe*.

HEURES	SUCRE (exprimé en glucose)			ALCOOL FORMÉ (en poids)		ROTATION (en degrés d'arc)
	Restant p. 100	Consommé p. 100	Consommé p. 100 de sucre offert	Grammes p. 100	P. 100 de sucre consommé	
0	7,7	0	—	0	—	0
70	6,85	0,85	11,09	0,37	43,52	— 26'
94	6,09	1,61	20,90	0,72	44,7	— 30'
118	5,06	2,64	34,28	1,25	47,34	— 36'
142	4,12	3,58	46,59	1,67	47,7	— 30'
166	3,25	4,45	57,79	2,25	50,5	— 28'
190	2,34	5,36	70,00	2,61	48,6	— 14'
214	1,72	5,98	77,66	3,04	50,8	++ 16'
262	1,19	6,51	84,41	3,24	49,7	++ 26'

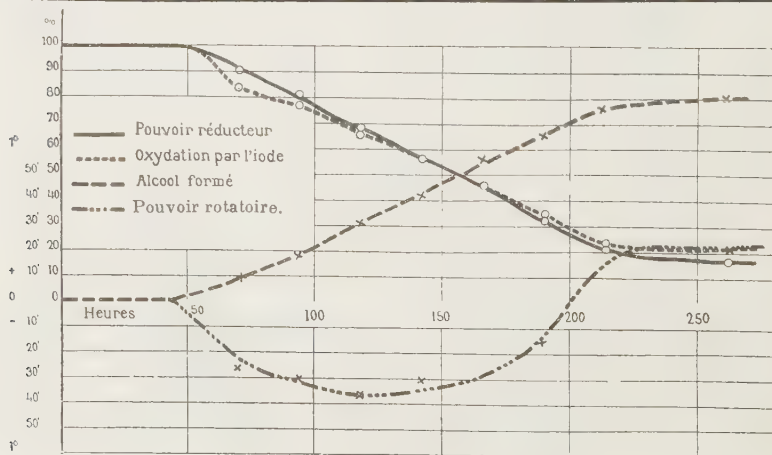


FIG. 2.

sucre offert sont consommés, ce sucre lévogyre est attaqué à son tour et la rotation droite finale qui apparaît est due à la présence d'une substance ou d'un mélange de substances dextrogyres et non fermentescibles.

C'est à dessein que nous avons mis en route les fermentations avec des quantités faibles de levure. Dans ces conditions, la fermentation est relativement lente au début et l'on arrive à en suivre aisément la marche progressive. Les chiffres relatifs à la production de l'alcool montrent d'ailleurs que la fermentation est tout à fait normale; les rendements en alcool rapportés au sucre consommé sont naturellement un peu plus faibles au début de la fermentation, ce qu'on pourrait expliquer en admettant qu'une fraction du sucre est employée à la production de cellules de levure.

Le tableau II et la figure 2 résument une expérience semblable faite avec le *Schizosaccharomyces Pombe*. Ici les choses se passent en gros de la même façon que dans l'essai précédent qui a porté sur la levure de bière. Toutefois, la rotation gauche qui apparaît n'est pas aussi accentuée que dans le cas de la levure de bière et la marche de la consommation du sucre lévogyre est un peu ralentie. Aussi la courbure du graphique qui représente la rotation est-elle plus petite dans le cas de la levure Pombé que dans l'expérience précédente.

III

Voilà donc deux levures qui se comportent à peu près de la même manière au point de vue physiologique. Que va-t-il se passer si on a recours à une levure douée d'un pouvoir électif différent, c'est-à-dire ayant la propriété, en présence d'un mélange de glucose et de lévulose, de faire fermenter le dernier de ces sucres plus rapidement que l'autre. Voici ce que répond l'expérience.

Dans cet essai, nous avons employé une levure provenant d'une souche de levure de Sauternes, étudiée par Gayon et Dubourg (1). Ces auteurs, comme on sait, sont les premiers à avoir signalé l'existence, dans les vins blancs de Sauternes notamment, de levures qui font fermenter le lévulose plus vite que le dextrose. La figure 3 montre nettement la marche de la fermentation. L'expérience a porté sur le même échan-

(1) U. GAYON et E. DUBOURG. Sur la fermentation alcoolique du sucre interverti. *C. R. Acad. des Sc.*, **410**, 1890, p. 865.

tillon de sucre que dans les essais précédents, et on voit que la rotation devient droite. Cette rotation croît assez rapidement et, après avoir passé par un maximum, décroît jusqu'à un chiffre qui ne se modifie plus lorsque la fermentation est achevée.

TABLEAU III. — Solution de glucose fermentée
par la levure de Sauternes.

HEURES	SUCRE (exprimé en glucose)			ALCOOL FORMÉ (en poids)		ROTATION (en degrés d'arc)
	Restant p. 100	Consommé p. 100	Consommé p. 100 de sucre offert	Grammes p. 100	P. 100 de sucre consommé	
0	8,18	0	—	0	—	0
86	8,10	0,08	0,88	—	—	+ 12'
110	7,21	0,97	11,59	0,418	43,0	+ 1°5'
134	6,02	2,16	26,41	1,03	47,6	+ 3°0
158	4,77	3,41	44,43	1,70	47,08	+ 3°15'
182	3,25	4,93	60,27	2,4	48,6	+ 1°5
206	2,5	5,68	69,44	2,81	49,4	+ 1°20'
230	3,44	5,74	70,17	2,81	48,9	+ 1°15'
270	2,44	5,74	70,17	2,82	49,0	+ 1°18'

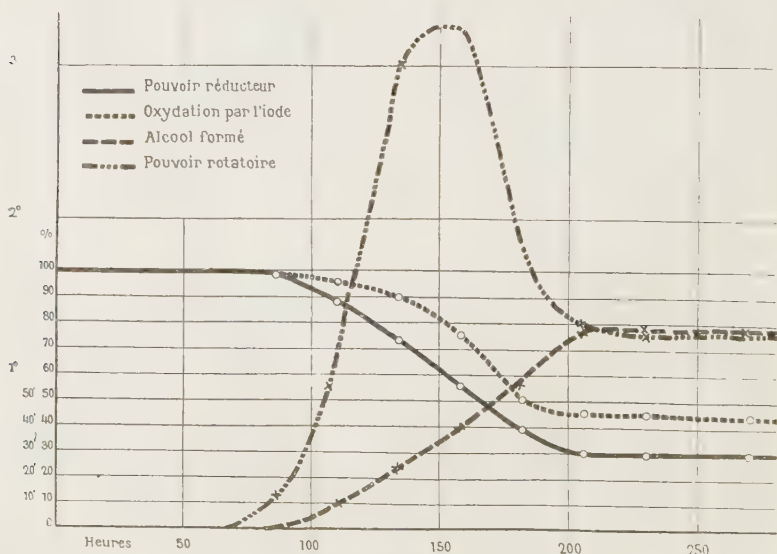


FIG. 3.

La courbe qui représente la marche de la fermentation par la levure de Sauternes diffère de celles qui correspondent aux levures précédentes, non seulement par sa courbure inverse, mais aussi par l'allure de son ascension qui est beaucoup plus rapide. C'est que l'action élective de la levure de Sauternes sur le lévulose est plus marquée que celle des autres levures sur le dextrose, fait sur lequel nous reviendrons plus loin.

Comme dans le cas des deux levures étudiées précédemment, la fermentation par la levure de Sauternes n'aboutit pas non plus à la disparition complète des sucres offerts. Ici également, on se trouve en présence d'un résidu important non fermentescible ayant une rotation droite.

Nous n'avons pas encore pu établir la nature de la substance ou du mélange de substances qui possède ce pouvoir rotatoire droit. Les chiffres relatés dans les tableaux précédents montrent qu'il s'agit d'une substance réductrice. Cette substance est d'ailleurs oxydable par l'iode, ce qui indique que nous n'avons pas affaire à du glutose, qui aurait pu se former sous l'influence de l'action de l'alcali sur le glucose. Le liquide obtenu après fermentation fournit une osazone fondant à 75° environ. Quelle qu'ait été la levure employée, c'est toujours la même osazone que nous avons obtenue.

Il est digne de remarque que la levure de Sauternes laisse un déchet de fermentation plus important que la levure de bière et que le *Schizosaccharomyces Pombe*. Ainsi, ce déchet s'élève à 30 p. 100 environ dans le cas de la levure de Sauternes, tandis qu'il ne représente que 19 p. 100 et 16 p. 100 respectivement pour la levure de bière et la levure Pombé.

IV

Dans les essais précédents, nous nous sommes servis d'une solution de glucose rendue optiquement neutre. Il était intéressant de voir comment se comporterait vis-à-vis de levures différentes un autre hexose traité de la même façon par un alcali dilué. Nous avons choisi le mannose à cause de sa fermentescibilité. Les chiffres qui suivent montrent la marche de la modification du pouvoir rotatoire d'une solution de notre

mannose (5 p. 100) soumise à l'action de bicarbonate de sodium (8 p. 1.000) à 40°.

HEURES	ROTATION (en degrés d'arc)
0.	— 28'
24.	+ 12'
36.	+ 40'
48.	+ 34'
72.	+ 28'
96.	+ 22'
120.	+ 16'
144.	+ 10'
168.	+ 8'
192.	+ 6'
216.	+ 4'
240.	0°
264.	0°
288.	0°

On voit que la solution fraîche de notre mannose possède une rotation gauche qui devient ensuite droite, ce qui est conforme aux indications de Van Ekenstein (†) qui a étudié les propriétés optiques de ce sucre.

Nous avons soumis une solution de mannose rendue ainsi optiquement neutre et additionnée des sels nutritifs habituels

TABLEAU IV. — **Solution de mannose fermentée par la levure de bière de fermentation basse.**

HEURES	SUCRE (exprimé en mannose)			ALCOOL FORMÉ (en poids)		ROTATION (en degrés d'arc)
	Restant p. 100	Consommé p. 100	Consommé p. 100 de sucre offert	Grammes p. 100	P. 100 de sucre consommé	
0	10,3	0	—	0	—	0°
100	9,44	0,86	8,2	0,40	46,51	— 42'
148	6,10	4,20	40,77	1,834	44,8	— 32'
172	3,65	6,65	64,56	3,013	46,67	— 22'
196	2,03	8,27	80,29	4,094	49,50	0
268	0,61	9,69	94,07	3,844	50,00	+ 6'

(†) W. Alberda Van EKENSTEIN. Sur la mannose cristallisée. *Rec. Tr. Chim. Pays-Bas*, 45, 1895, p. 221.

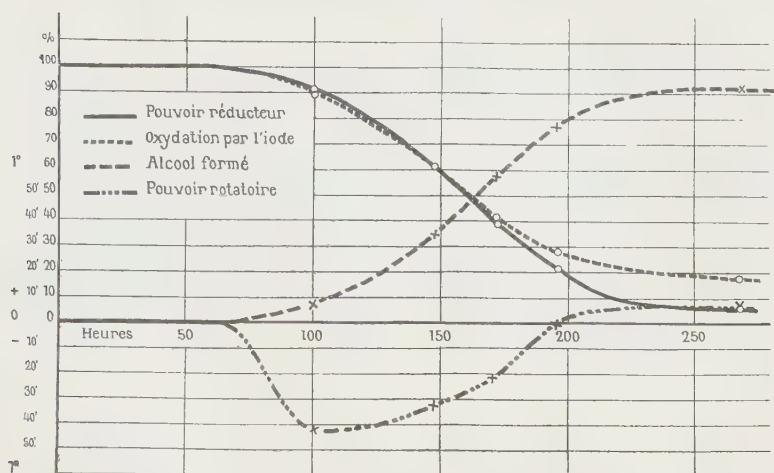


FIG. 4.

TABLEAU V. — Solution de mannose fermentée par la levure de Sauternes.

HEURES	SUCRE (exprimé en mannose)			ALCOOL FORMÉ (en poids)		ROTATION (en degrés d'arc)
	Restant p. 100	Consommé p. 100	Consommée p. 100 de sucre offert	Grammes p. 100	P. 100 de sucre consommé	
0	10,3	0	—	0	—	0°
127	6,92	3,38	32,8	1,065	31,5	+ 28'
151	5,42	4,88	47,38	2,436	43,78	+ 30'
175	3,80	6,50	63,10	3,39	50,20	+ 4°1'
197	2,43	7,87	73,55	4,00	50,6	+ 58'
269	1,15	9,15	88,8	4,647	50,7	+ 12'

à l'action de la levure de bière, d'une part, et à l'action de la levure de Sauternes, d'autre part. Les tableaux IV et V, ainsi que les graphiques correspondants, montrent la marche respective des deux fermentations.

On voit que le mannose se comporte de la même façon que le glucose : la levure de bière fait apparaître une rotation gauche, tandis que, dans le cas de la levure de Sauternes, c'est

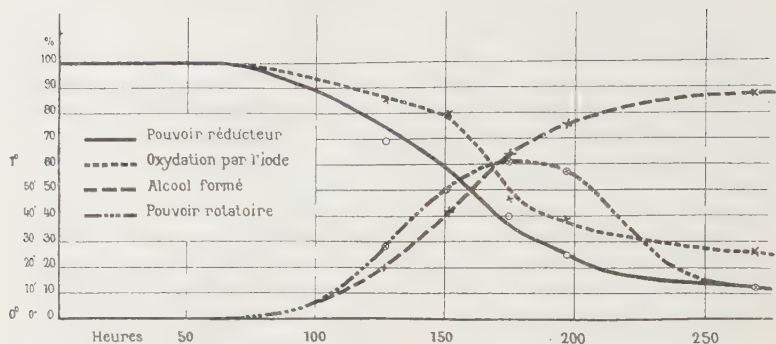


FIG. 5.

la rotation droite qui apparaît. Ici également, l'action élective de cette dernière levure sur le sucre lévogyre est plus accentuée que celle de la levure de bière sur le sucre dextrogyre. Enfin, la fermentation n'aboutit pas ici non plus à la consommation complète du sucre offert ; et la quantité du résidu dextrogyre non fermentescible est plus élevée dans le cas de la levure de Sautesnes que dans la fermentation effectuée par la levure de bière, comme dans les essais précédents.

V

Au lieu d'employer le polarimètre pour suivre la marche des phénomènes qui viennent d'être signalés, on peut avoir recours au dosage chimique des sucres. En nous servant concurremment de la méthode bien connue de G. Bertrand et de la méthode iodométrique, telle qu'elle a été indiquée par Baker et Hulton (1), nous avons pu suivre simultanément la marche de la fermentation des sucres aldéhydiques, d'une part, et celle des sucres cétoniques, d'autre part.

Mais pour mettre en évidence avec netteté la vitesse inégale avec laquelle diverses levures font disparaître les sucres formés sous l'influence de l'action de l'alcali, c'est seulement la quantité des sucres réellement *fermentescibles* qu'il faut faire entrer en ligne de compte. La détermination de cette fraction des

(1) J.-L. BAKER et H.-F. HULTON. The iodimetric estimation of sugars. *Biochem. Journ.*, 45, 1920, p. 754.

sucres est facile : il n'y a qu'à retrancher de la quantité du sucre total restant à chaque moment de la fermentation la quantité de sucre résiduel qu'on détermine à la fin de la fermentation.

Ainsi, par exemple, dans notre premier essai de fermentation (tableau I), la quantité des sucres fermentescibles s'élève à 6,66 p. 100 (8,18 — 1,52) au début, à 5,68 p. 100 (7,20 — 1,52) après soixante-deux heures, à 4,12 p. 100 (5,64 — 1,52) après quatre-vingt-six heures, etc. A l'aide de ces chiffres, qui correspondent aux chiffres de la troisième colonne du même tableau, on peut alors calculer le pourcentage du sucre total qui a disparu à chaque stade de la fermentation.

Ce sucre *réducteur total* fermentescible est déterminé par la méthode de G. Bertrand. Il est composé de deux portions : les sucres aldéhydiques et les sucres cétoniques.

Seuls les sucres aldéhydiques sont dosés par la méthode iodométrique. Quant aux sucres cétoniques, ils sont représentés par la différence entre le sucre total dosé par la méthode de G. Bertrand et les sucres aldéhydiques dosés par iodométrie (1). Ici également, bien entendu, nous ne tenons compte que de la quantité d'iode qui correspond au sucre aldéhydique réellement *consommé*. Si, par exemple, au début de la fermentation, il fallait 0 gr. 907 d'iode pour 10 cent. cubes de notre solution de sucre et si, à la fin de la fermentation, le même volume a exigé pour son oxydation 0 gr. 320, la quantité de sucre aldéhydique *fermentescible* contenue dans 10 cent. cubes de notre solution correspond à 0 gr. 587 d'iode ou à 4,0 p. 100

(1) Il faut noter que dans les conditions indiquées par Baker et Hulton l'iode n'oxyde pas seulement le sucre aldéhydique, dans un mélange de glucose et de lévulose. Le lévulose est également attaqué, dans une mesure très restreinte, il est vrai. Ainsi, 1 gramme de glucose exige pour son oxydation 1 gr. 41 d'iode, tandis que 1 gramme de lévulose n'exige que 0 gr. 10 d'iode. La répartition des sucres aldéhydiques et cétoniques dans un mélange se calcule dès lors d'après les équations suivantes :

$$\left. \begin{aligned} M &= x + y \\ M' &= 1,41 x + 0,1 y \end{aligned} \right\}$$

où M indique la quantité totale des sucres réducteurs dosés par la méthode de Bertrand et M' indique la quantité d'iode employée pour l'oxydation : x et y indiquent respectivement le glucose et le lévulose (en grammes). Les chiffres consignés dans nos tableaux ont été calculés à l'aide de ces équations

de sucre aldéhydique fermentescible; notre solution renferme ainsi au début de la fermentation $6,66 - 4,0 = 2,66$ p. 100 de sucre *cétonique* fermentescible.

Les chiffres suivants (tableau VI) montrent comparativement la marche de la consommation des sucres aldéhydiques et des sucres cétoniques dans la fermentation déterminée par la levure de bière, tandis que le graphique de la figure 1 représente la marche de la même fermentation d'après les mesures polarimétriques successives, c'est-à-dire qu'il n'indique que les variations globales de la rotation.

TABLEAU VI. — Consommation par la levure de bière
de fermentation basse
des sucres aldéhydiques et des sucres cétoniques fermentescibles.

HEURES	SUCRES RÉDUCTEURS FERMENTESCIBLES (dosés par la méthode de G. Bertrand)			SUCRES ALDÉHYDIQUES FERMENTESCIBLES (dosés par la méthode iodométrique)			SUCRES CÉTONIQUES FERMENTESCIBLES		
	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert
0	6,66	0	0	4,0	0	0	2,66	0	0
62	5,68	0,98	11,7	3,18	0,82	20,5	2,50	0,16	6
86	4,12	2,54	38,3	1,92	2,08	52,0	2,20	0,46	17,3
110	2,56	4,10	61,6	1,12	2,88	69,0	1,44	1,22	45,8
134	1,03	5,63	86,0	0,567	3,433	85,8	0,463	2,197	82,6
158	0,33	6,33	93,0	0,44	3,56	89,0	[— 0,1] (1)	2,66	100
182	0,15	6,51	97,7	0,25	3,75	93,8	[— 0,1]	2,66	100
206	0	6,66	100	0	4,0	100	0	2,66	100
230	0	6,66	100	0	4,0	100	0	2,66	100

(1) L'anomalie de ce chiffre, d'ailleurs très faible, provient sans doute du manque de précision de la méthode employée pour le dosage des sucres aldéhydiques.

La vitesse inégale avec laquelle les aldoses et les cétoles sont fermentés par la levure de bière ressort nettement de ces chiffres et mieux encore de leur représentation graphique (fig. 6).

Ainsi, alors que, après soixante-deux heures de fermentation, 20,5 p. 100 des aldoses fermentescibles sont consommés, 6,10 p. 100 seulement des sucres cétoniques ont disparu;

après cent dix heures, la consommation s'élève respectivement à 69,0 p. 100 et 45,8 p. 100. Mais, à partir du moment où la fermentation s'achemine vers son terme, les différences entre les vitesses de fermentation diminuent et la courbe des aldoses rejoint finalement la courbe des cétones. Tout le phénomène de la fermentation élective par la levure de bière se trouve

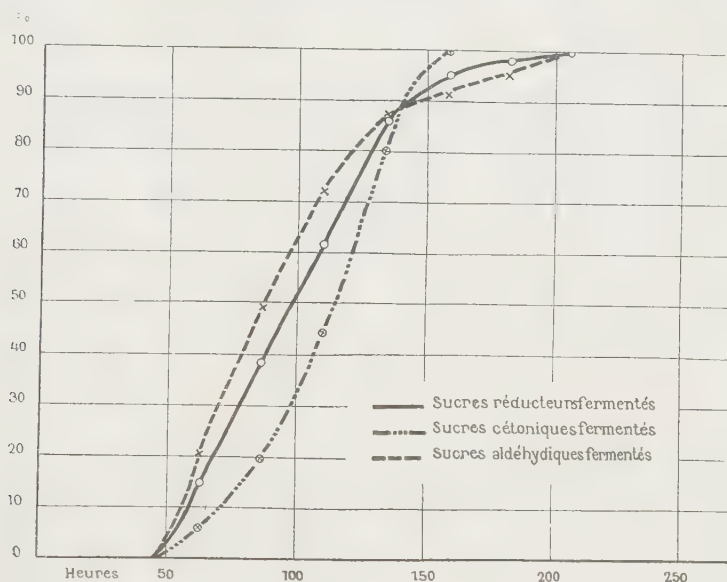


FIG. 6.

ainsi traduit par les chiffres expérimentaux fournis par les deux méthodes d'analyse employées concurremment.

Dans le cas de la levure de Sauternes, on peut prévoir que l'inverse doit se produire, et que les cétones doivent être fermentés avec une vitesse plus grande que les aldoses. En effet, sous l'influence de cette levure, après cent-dix heures de fermentation, alors que 6,07 p. 100 seulement des aldoses fermentescibles sont consommés, 1/3 des cétones a déjà disparu. Après cent trente-quatre heures, les chiffres correspondent respectivement à 14,4 p. 100 et 72,8 p. 100; et après cent cinquante-huit heures, lorsque 40,4 p. 100 des aldoses sont consommés, la presque totalité des cétones a déjà disparu (97,3 p. 100). Ici également, vers la fin de la fermentation, les courbes se rejoignent.

gnent. Mais, dans le cas de la levure de Sauternes, les inégalités dans la vitesse avec laquelle les deux sortes de sucre fermentent sont bien plus accentuées que dans le cas de la levure de bière, fait que nous avons déjà pu mettre en évidence lorsque nous avons suivi la marche de la fermentation par le polarimètre.

Le tableau VII et la figure 7 représentent le phénomène dans ses détails.

TABLEAU VII. — Consommation par la levure de Sauternes des sucres aldéhydiques et des sucres cétoniques fermentescibles.

HEURES	SUCRES RÉDUCTEURS FERMENTESCIBLES (dosés par la méthode de G. Bertrand)			SUCRES ALDÉHYDIQUES FERMENTESCIBLES (dosés par la méthode iodométrique)			SUCRES CÉTONIQUES FERMENTESCIBLES		
	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert
8	5,74	0	0	3,46	0	0	2,28	0	0
86	5,66	0,08	1,39	3,46	0	0	2,20	0,08	3,5
110	4,77	0,97	16,9	3,25	0,21	6,07	1,52	0,76	33,3
134	3,58	2,16	37,6	2,96	0,50	14,4	0,62	1,66	72,8
158	2,13	3,61	62,9	2,07	1,39	40,4	0,06	2,22	97,3
182	0,81	4,93	86,0	0,8	2,66	71,1	0,01	2,27	99,5
206	0,06	5,68	98,9	0,1	3,33	97,8	[— 0,05] (1)	2,28	100
230	0	5,74	100	0	3,46	100	0	2,28	100
270	0	5,74	100	0	3,46	100	0	2,28	100

(1) L'anomalie de ce chiffre, d'ailleurs très faible, provient sans doute du manque de précision de la méthode employée pour le dosage des sucres aldéhydiques.

Voici enfin les chiffres relatifs à notre essai de fermentation par le *Schizosaccharomyces Pombe* (tableau VIII). Ici également, les résultats fournis par la méthode chimique confirment en tous points ceux que nous a donnés l'étude polarimétrique. L'action élective de cette levure sur les sucres aldéhydiques est nettement prononcée (1).

(1) Nous avons suivi également par la voie chimique la fermentation, par la levure de bière et par la levure de Sauternes, du mannose rendu optiquement neutre. Les résultats obtenus sont tout à fait conformes à ceux que nous avons enregistrés dans nos essais avec le glucose, dont les résultats viennent d'être résumés.

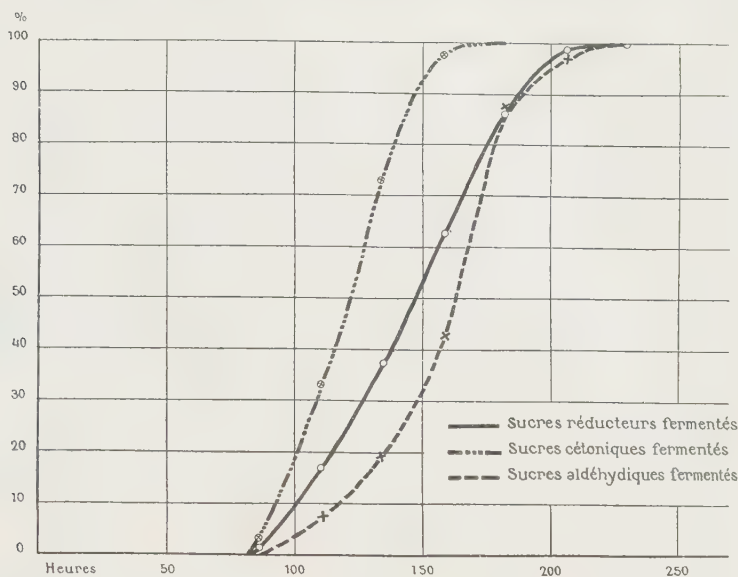


FIG. 7.

TABLEAU VIII. — Consommation par le *Schizosaccharomyces Pombe* des sucres aldéhydiques et des sucres cétoniques fermentescibles.

HEURES	SUCRES RÉDUCTEURS FERMENTES-CIBLES (dosés par la méthode de G. Bertrand)			SUCRES ALDÉHYDIQUES FERMENTESCIBLES (dosés par la méthode iodométrique)			SUCRES CÉTONIQUES FERMENTESCIBLES		
	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert	Restants p. 100	Consommés p. 100	Consommés p. 100 de sucre offert
0	6,51	0	0	4,70	0	0	1,81	0	0
70	5,66	0,85	13,05	3,86	0,84	17,87	1,80	0,01	5,52
94	4,90	1,61	24,73	3,26	1,44	30,63	1,64	0,17	9,39
118	3,87	2,64	40,55	2,60	2,10	44,68	1,27	0,54	29,83
142	2,93	3,58	55,00						
166	2,06	4,45	68,35	1,37	3,33	70,85	0,69	1,12	61,87
190	1,15	5,36	82,33	0,72	3,98	84,68	0,43	1,38	72,24
214	0,53	5,98	91,8	0,05	4,65	98,9	[— 0,48]	1,81	100
262	0	6,51	100	0	4,70	100	0	—	—

(1) L'anomalie de ce chiffre, d'ailleurs très faible, provient sans doute du manque de précision de la méthode employée pour le dosage des sucres aldéhydiques.

VI

Ainsi donc, dans les solutions de glucose ou de mannose rendues optiquement neutres par l'alcali, la neutralité optique n'est certainement pas due à la suppression définitive de la rotation des sucres qui ont pris naissance. L'action élective de la cellule de levure fait apparaître dans ce mélange, à un stade donné de la fermentation, tantôt un excès de sucres aldéhydiques dextrogyres, tantôt un excès de sucres cétoniques levogyres. La neutralité optique (1) résulte donc d'une compensation entre les rotations des divers corps qui se forment.

Les différences observées d'une levure à l'autre se retrouvent-elles lorsque, au lieu d'employer la levure vivante, on s'adresse à la diastase alcoolique extraite de la cellule?

Voici ce que répond l'expérience :

La zymine, préparée suivant la technique indiquée par Albert, Buchner et Rapp (2) avec la levure de bière de fermentation basse, se comporte, par la rotation gauche qu'elle fait apparaître, de la même façon que la levure vivante dont elle provient.

Les chiffres qui suivent se rapportent à une expérience effectuée avec une solution de glucose optiquement neutre à 20 p. 100, mise en fermentation avec la zymine de la levure indiquée, en présence d'essence de moutarde employée comme antiseptique.

TABLEAU IX.

HEURES	ROTATION (en degrés d'arc)
—	—
0	0°
4	— 56'
7	— 4°40'
16	— 2°40'
23	— 3°0
30	— 3°0
∞	— 2°56'

(1) Il est très curieux de constater que finalement il y a compensation *exacte* entre les rotations des substances qui prennent naissance sous l'influence de l'alcali. Une fois la neutralité optique atteinte, l'action de l'alcali sur les pouvoirs rotatoires s'arrête et, pour rompre cet état d'équilibre, il faut l'intervention d'une action biochimique.

(2) R. ALBERT, Ed. BUCHNER et R. RAPP, Herstellung von Dauerhefe mittels Aceton. *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 35, 1902, p. 2376.

On voit que la transformation du sucre n'est pas poussée aussi loin que dans le cas où nous avons employé la levure vivante. La fermentation s'arrête ici avant que la totalité du sucre fermentescible ait disparu, et le stade où se révèle la présence du sucre dextrogyre non fermentescible n'est pas atteint.

Avec la zymine provenant de la levure de Sautesnes, on observe encore le même effet, à la vitesse près, qu'avec cette levure employée à l'état vivant, c'est-à-dire qu'on assiste à l'apparition d'une rotation *droite*, comme le montrent les chiffres suivants :

HEURES	ROTATION (en degrés d'arc)
—	—
0	0°
4	+ 12'
20	+ 31'
24	+ 30'
33	+ 30'

En ne considérant que ces deux levures dont chacune exerce une action élective nettement définie, on serait conduit à admettre que cette action élective est une propriété inhérente à la diastase alcoolique elle-même. En effet, dans les deux cas, la zymase, aussi bien dans la cellule vivante que lorsqu'elle est séparée de la cellule, agit de la même façon : la zymine de la levure de bière fait apparaître la rotation gauche en s'attaquant de préférence au dextrose, tandis que la zymine de la levure de Sautesnes agit en sens inverse, en faisant fermenter plus rapidement le sucre lévogyre. Mais on aurait tort de généraliser, car les résultats sont tout différents lorsqu'on s'adresse à d'autres levures, telles que la *Schizosaccharomyces Pombe* et le *Saccharomyces exiguus* (Ress-Hansen).

On a vu que la première de ces levures fait prendre à la solution sucrée rendue optiquement neutre une rotation gauche lorsqu'on la fait agir à l'état vivant (tableau II et figure 2). Or, si on fait agir sur la même solution sucrée (la solution est à 10 p. 100) la zymine préparée à partir de ce *Schizosaccharomyces*, c'est une rotation droite qui apparaît comme le montrent les chiffres suivants :

HEURES	ROTATION (en degrés d'arc)
—	—
0	0
5	+ 10'
28	+ 28'
∞	+ 28'

Il en est de même d'une expérience effectuée à l'aide du *Saccharomyces exiguus*.

Voici d'abord la marche d'une fermentation mise en route avec la levure vivante :

TABLEAU X. — Solution de glucose optiquement neutre fermentée par le *Saccharomyces exiguus*.

HEURES	SUCRE (exprimé en glucose)			ROTATION (en degrés d'arc)
	Restant p. 100	Consommé p. 100	Consommé p. 100 de sucre offert	
0	7,95	0	0	0
76	6,85	1,1	13,8	— 16'
100	6,6	1,35	16,9	— 30'
120	5,5	2,45	30,8	— 50'
140	4,92	3,03	38,3	— 1°0
168	3,16	3,79	47,6	— 54'
192	1,95	5,06	61,7	— 8'
240	1,50	6,45	82,4	+ 10'
∞	1,50	6,45	82,4	+ 16'

On voit que cette levure se comporte comme la levure de bière au point de vue de la rotation qu'elle fait apparaître. Or, la zymine préparée à partir du *Saccharomyces exiguus* agit en sens inverse, comme le font voir les chiffres suivants :

HEURES	ROTATION (en degrés d'arc)
—	—
0	0"
4	+ 12'
20	+ 32'
24	+ 32'
∞	+ 32'

VII

Les résultats expérimentaux qui viennent d'être signalés montrent tout d'abord que les inégalités dans la vitesse avec laquelle les divers sucres sont fermentés par une levure donnée

ne sont certainement pas dues à des différences de perméabilité, c'est-à-dire des différences dans la résistance que l'enveloppe de la cellule de levure oppose au passage des divers sucres. En effet, ces différences apparaissent aussi bien dans les fermentations, provoquées par la levure vivante, que dans celles que détermine la zymase séparée de la cellule de levure. Il faut donc admettre avec Bourquelot (1) que le phénomène de la fermentation élective est dû essentiellement à la constitution des sucres fermentescibles et à la résistance qu'ils opposent à l'action de la levure, ou plus exactement à l'action de la diastase alcoolique.

Mais ici une question importante se pose. Comment expliquer le fait que cette résistance varie d'une levure à l'autre? Chaque sucre exigerait-il pour être fermenté l'intervention d'une zymase particulière, comme Duclaux (2) en a suggéré l'idée? Il serait difficile de l'admettre en présence des résultats rapportés. En effet, comme on vient de le voir, le pouvoir électif de certaines levures varie, suivant qu'on les fait agir à l'état vivant, ou qu'on a recours à la zymine qui en provient. Les cas du *Saccharomyces exiguus* et du *Saccharomyces Pombe* présentent des exemples typiques à ce point de vue (3).

Dans ces cas, le traitement des levures par l'acétone et l'éther a renversé le sens dans lequel s'exerce le pouvoir électif de la zymase. Mais, d'autre part, ce traitement a conduit, et c'est ici un point important, à une préparation de zymase peu active, si on la compare à la levure dont elle provient, comme le montrent les chiffres relatés plus haut. Cet effet n'a pas lieu de surprendre, si on se souvient que le pouvoir électif des levures peut être aussi modifié profondément par d'autres facteurs. Parmi ces facteurs, il convient de citer les changements dans la température et dans la concentration des sucres, comme l'a signalé Bourquelot, et les changements dans la réaction du milieu, fait relaté récemment par Fernbach et Schiller (4).

(1) EM. BOURQUELOT, Recherches sur la fermentation alcoolique d'un mélange de deux sucres. *Ann. Chim. Phys.* (6^e série), **9**, 1886, p. 245.

(2) DUCLAUX. *Traité de Microbiologie*, 3, p. 258.

(3) A. FERNBACH et N. SCHILLER, Du rôle de la réaction du milieu dans la fermentation élective. *C. R. Acad. des Sc.*, **177**, 1924, p. 2196.

(4) Des différences du même ordre ont été signalées par R. O. HERZOG et

Ces diverses influences agissent pour modifier à la fois et le pouvoir électif de la levure et la vitesse de la fermentation. On est donc conduit à penser qu'il y a peut-être entre les deux ordres de modifications une relation étroite de cause à effet. Or, on sait que la vitesse de la fermentation dépend en fin de compte des substances qui accompagnent la zymase proprement dite. Il se trouve précisément que la nature et les proportions relatives de ces substances sont modifiables par les facteurs auxquels il vient d'être fait allusion. Il faudrait dès lors se demander si ces modifications ne sont pas, bien plus que celles de la zymase proprement dite, les causes profondes des changements du pouvoir électif de la zymase ou de la résistance qu'opposent les divers sucres à son action. Il est évident que, pour résoudre la question, des expériences nouvelles s'imposent, orientées particulièrement vers l'étude de ce qu'on désigne sous la dénomination de co-zymase.

*
* *

Comme on l'a vu dans ce qui précède, l'emploi de solutions de sucres rendus optiquement neutres par l'action des alcalis nous offre un moyen d'étude commode du pouvoir électif des levures. Il n'est pas douteux que la même méthode de travail pourrait fournir des indications très utiles si on l'appliquait à l'étude d'autres microorganismes, en particulier pour leur différenciation et leur classification dans les cas où les autres méthodes sont d'un emploi plus difficile et moins précis.

A. SALADIN (Ueber die Veränderungen der fermentativen Eigenschaften welche die Hefezellen bei der Abtötung durch Aceton erleiden. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **73**, 1911, p. 263).

Un autre exemple curieux de la différence d'action entre la levure vivante et le complexe diastasique qu'on peut en extraire vient d'être signalé par C. Neuberg et M^{lle} Kobel. Ces auteurs ont constaté que le méthylglyoxal est transformé par la levure vivante en acide lactique *droit*, tandis que le suc de macération fournit de l'acide *inactif* (Ueber die Bildung von reiner d-Milchsäure durch frische Hefe und Trockenhefe, sowie von dl-Milchsäure durch Hefemazerationssaft. *Biochem. Zeitschr.*, **182**, 1927, p. 470).

L'INFESTATION DU CHIMPANZÉ PAR UN NÉMATODE DU GENRE *HÉPATICOLA*

par J. TROISIER, R. DESCHIENS, H. LIMOUSIN et M. DELORME.

En octobre 1925, peu de jours après l'arrivée à l'Institut Pasteur d'un convoi de chimpanzés provenant de Kindia (Afrique Occidentale Française), mourait un jeune chimpanzé (*Anthropopithecus troglodytes* L), femelle de six ans environ. Elle avait été capturée dans la forêt un mois avant d'être envoyée en France. A son autopsie (29 octobre 1925) nous ne pûmes déceler que des lésions légères de broncho-pneumonie aiguë, cause malheureusement fréquente de mort chez les anthropoïdes amenés en convoi. Seul l'examen histologique révéla à deux d'entre nous des lésions parasitaires curieuses du foie qui retinrent aussitôt notre attention. Il s'agissait d'une lésion très localisée au milieu du tissu hépatique par ailleurs sain : de nombreux œufs de Trichurinés, disséminés dans un tissu scléreux, étaient facilement visibles à un faible grossissement.

Deux ans après, mourait à la Colonie (Kindia) un autre chimpanzé (*Anthropopithecus troglodytes* L) sans que l'on ait noté pendant la vie de symptômes particuliers du côté du foie. Un fragment du foie de cet animal fut prélevé par l'un de nous, M. Delorme, qui le rapporta à Paris fixé dans le Bouin le 9 juin 1927 aux fins d'examen histologique. Les mêmes œufs de parasites s'y retrouvèrent, mais cette fois en bien plus grand nombre, ainsi que des réactions cellulaires similaires. Dès lors nous pensâmes ne plus avoir affaire à une maladie d'exception et nous décidâmes de pousser à fond la diagnose parasitologique.

LES CARACTÉRISTIQUES DE L'ŒUF.

Les œufs étudiés dans le tissu hépatique fixé au Bouin ordinaire pour le cas 2, dans le fixateur suivant : acétone 150, formol 60, acide picrique 1, acide acétique 15 (H. Limousin)

pour le cas 1, et coloré par l'hématéine, éosine, safran, mesurent en moyenne $51,5 \times 29 \mu$ (20 exemplaires mesurés); ils ont une forme de tonnelet et présentent une double enveloppe et un orifice à chaque pôle (fig. 1). La cuticule externe brunâtre est épaisse de 4μ environ et offre des stries radiaires assez espacées; l'enveloppe interne plus mince est colorée en rose vif et se

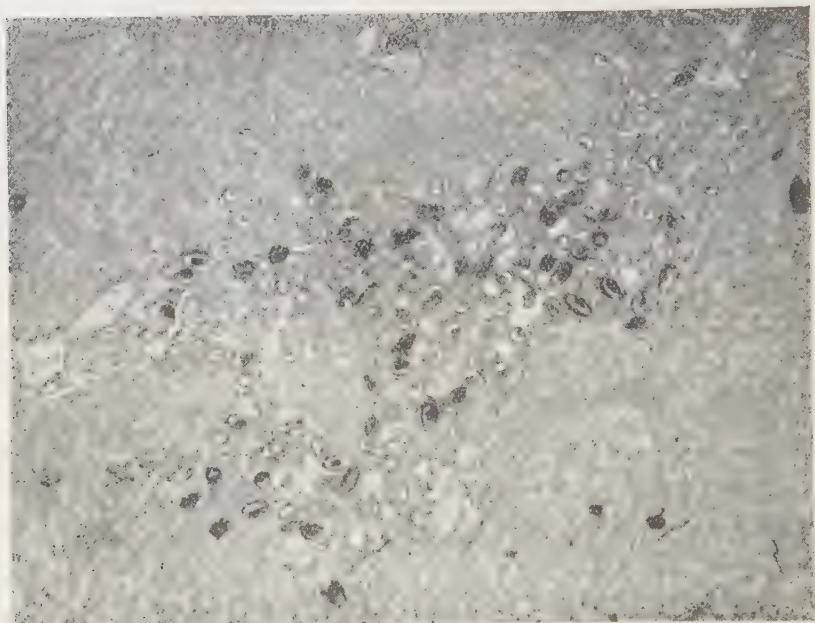


FIG. 1. — Photomicrographie (Jeantet). [Grossissement 700 diamètres.] Les œufs d'*Hepaticola* en coupe longitudinale ou transversale avec leur double paroi, leurs pores, leur masse vitelline centrale. Plusieurs œufs sont vus par leur face supérieure.

(Coupe histologique fixée au Bouin.)

termine en s'effilant vers chaque orifice polaire après avoir présenté sa largeur maxima, 2μ environ, à l'équateur de l'œuf. A l'intérieur de l'œuf on note la présence d'une masse vitelline granuleuse généralement rétractée par la fixation, colorée en rose vif et présentant çà et là des ponctuations basophiles agminées. L'exploration méthodique des coupes de foie que nous possédons ne nous a malheureusement pas fait découvrir de ver adulte.

ANATOMIE PATHOLOGIQUE.

Dans notre premier cas, les lésions observées étaient extrêmement limitées. Près d'un espace porte, nettement reconnais-

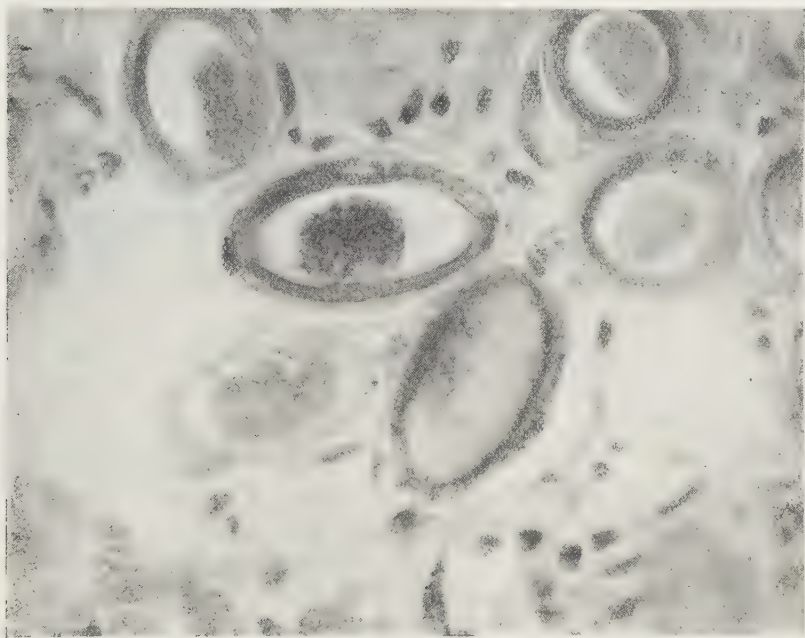


FIG. 2. — Photomicrographie (Jeantet). Aspect général des lésions.
Les œufs en plein parenchyme hépatique chez le chimpanzé
(*Anthropopithecus troglodytes*).

sable par un canalicule biliaire par ailleurs intact, on trouvait agglomérés sous une faible superficie une vingtaine d'œufs plus ou moins altérés entourés d'une gangue scléreuse dense, riche en collagène, colorée en bleu par le Curtis et en orange par le safran. Au pourtour de cette sclérose quelques lymphocytes, plasmocytes et deux belles cellules géantes à protoplasma non acidophile, grenu, avec sept et huit noyaux nettement isolés. En dehors de cette lésion, le parenchyme hépatique était parfaitement sain.

Dans notre deuxième cas, les lésions étaient bien plus diffuses comme il est facile de s'en rendre compte sur la seconde photomicrographie (fig. 2), que nous devons à l'obligeance courtoise de M. Jeantet. Ces lésions diffuses étaient d'ailleurs visiblement à des stades d'ancienneté variables, les unes toutes récentes, avec des œufs frais, d'autres anciennes, avec des œufs dégénérés, attaqués par les cellules de l'hôte et enrobés dans du tissu cicatriciel.

Au point de vue topographique, ces lésions étaient cette fois réparties surtout dans le lobule hépatique lui-même, comme si la femelle était venue pondre ses œufs en plein foie. Un seul espace porte nous montra des œufs peu nombreux, tandis que souvent la zone infectée gagnait le voisinage immédiat des veines sus-hépatiques. En dehors des régions bouleversées par le parasite, les cellules hépatiques sont à peu près saines.

Les zones pathologiques présentent à étudier les réactions cellulaires des tissus du chimpanzé et les altérations des œufs de parasites.

Ces zones, de grandeur et de forme variables, sont constituées par un tissu inflammatoire englobant de multiples œufs. Les œufs en grand nombre paraissent semés dans un tissu, riche en cellules mononucléées; la plupart du type lymphocytaire, çà et là quelques-unes du type plasmocytaire; de rares polynucléaires. Des fibres collagènes, plus ou moins denses, parfois réunies en faisceaux, déterminent un aspect cirrhotique des plus nets. Cette cirrhose reste isolée en placards et ne pénètre pas dans le reste du parenchyme.

Des plasmods multinucléés parsèment çà et là les placards cirrhotiques. (Planche en couleur B. C. D. E. F. G. H.) Il s'agit de cellules volumineuses, de 20 à 25 μ en moyenne, avec des noyaux multiples (6, 8, 10, 20 et même 30 par cellule) présentant un réseau chromatique bien coloré, quoique peu dense et un protoplasma amphophile légèrement grenu. Ces plasmods sont toujours au contact d'un œuf plus ou moins altéré. Au début, on voit, recouvrant un œuf presque sain, une petite cellule bi ou trinuéclée. Plus tard, cette cellule prolifère et un plasmode de 8 à 10 noyaux engaine à moitié ou aux trois quarts l'œuf altéré. Un degré de plus, on voit le

plasmode pénétrer par le pore de l'œuf et pousser un large pseudopode dans la cavité de l'œuf vidé de son contenu propre. Enfin, certains plasmodés ne présentent plus que des fragments de la paroi d'un œuf ou même de plusieurs œufs. D'autres, très rares, paraissent indépendants de toute présence d'œufs.

En même temps, on note des altérations progressives très nettes des œufs. Le type morphologique pur est loin d'être la règle. Très souvent on remarque que le corps protoplasmique central est altéré, perdant sa vive affinité acidophile et ses corps chromatinien délicats. Une plage faiblement acidophile le remplace, nettement rétractée. Du côté de la paroi on note d'abord la disparition de la cuticule externe. La zone interne se retrouve acidophile, rigide, flexueuse, parfois trop incurvée, jusque dans les plasmodés plurinucléés, tantôt intacte, tantôt brisée en plusieurs fragments isolés.

Cette œuvre de destruction progressive des œufs enclavés dans le parenchyme se poursuit fort loin. Et plusieurs îlots de sclérose, semés de lymphocytes, ne présentent plus d'œufs même dégénérés.

En dehors de ces îlots inflammatoires on relève la présence à leur voisinage et même à une certaine distance d'œufs en pleine vitalité avec leur masse vitelline richement pourvue de protoplasma fortement acidophile et tacheté de quelques ponctuations basophiles, siégeant en plein parenchyme entre deux travées de cellules hépatiques légèrement aplaties par compression. Il est à noter expressément que dans ces conditions il n'y a aucune réaction inflammatoire de voisinage, comme le montre la figure A de la planche en couleurs.

Ajoutons que, dans les deux cas, nous n'avons pu déceler de parasite à l'état adulte ni d'œufs dans la lumière des voies biliaires.

En résumé, dans le premier cas, lésions limitées du foie avec œufs entièrement enclavés dans du tissu cicatriciel; dans le deuxième cas, lésions plus diffuses en pleine activité, aspect général de cirrhose hépatique avec enclavement d'œufs multiples dans un tissu inflammatoire, sans réaction néoplasique.

DÉTERMINATION DU PARASITE.

L'absence d'adulte et la seule connaissance du parasite par ses œufs nous obligent évidemment à une certaine réserve dans la détermination de l'espèce, mais les données procurées par la morphologie des œufs et leur localisation dans le tissu hépatique, permettent de grandes probabilités de détermination.

Bancroft, en 1893, a étudié sous le nom de *Trichocephalus hepaticus* un Nématode de la sous-famille des Trichurinés pondant ses œufs dans le foie du rat d'égout (*Mus decumanus*). Ce parasite a peut-être été vu par Rudolphi (1817) et Molin (1857), mais ces auteurs n'avaient su le distinguer des gongylonèmes. Hall, en 1916, créa pour ce Trichuriné le genre *Hepaticola* et le désigna sous le nom de *Hepaticola hepatica* (Bancroft, 1893). M. Brumpt a rencontré assez fréquemment ce parasite chez les rats et les souris du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris.

Le genre *Hepaticola* est généralement accepté et se fonde sur les caractères morphologiques des adultes distincts de ceux du genre *Trichocephalus* (*Trichiuris*), sur la localisation hépatique et sur les dimensions des œufs du parasite.

Les adultes du genre *Hepaticola* diffèrent de ceux du genre *Trichiuris* (syn. : *Trichocephalus*) en ce que la partie antérieure du corps qui contient l'œsophage est plus courte et ne présente pas de bande bacillaire à la face ventrale. En outre, la portion postérieure du ver ne présente qu'une faible différence de diamètre avec la partie antérieure et le spicule d'accouplement est absent chez le mâle. Chez *Trichiuris*, on sait qu'au contraire la différence de diamètre entre la portion antérieure et la portion postérieure est très accentuée et que le mâle porte un spicule d'accouplement.

Les œufs d'*Hepaticola hepatica* du rat sont plus larges que ceux de trichocéphales tout en gardant la même longueur ainsi que l'indique le tableau suivant.

Le parasite que nous avons observé doit être rattaché au genre *Hepaticola* en raison de la localisation hépatique exclusive et des dimensions de ses œufs.

Les nématodes du genre *Hepaticola* ou présumées apparte-

tenant à ce genre n'ont été rencontrées dans la nature que chez 5 hôtes :

1° Dans le foie du rat (*Mus decumanus* et *M. rattus*) par Bancroft en 1893;

TABLEAU I.

	MOYENNE DES DIMENSIONS DES OEUFS DES TRICHURINÉS POUR 20 EXEMPLAIRES MESURÉS	
	L.	/
<i>Trichuris trichiura</i> (<i>Trichocephalus trichiurus</i>) [Linné 1771].	55 μ .	25 μ .
<i>Hepaticola hepatica</i> du rat	55 μ .	29 μ .
<i>Hepaticola anthropitheci</i> (chimpanzé)	51 μ . 5	29 μ .

2° Dans le foie de la souris (*Mus musculus*);

3° Dans le foie du lièvre, Nicoll, en 1911, a décrit des œufs présentant les caractères de ceux des espèces du genre *Trichuris* ou *Trichosoma*, qui doivent probablement être rattachées à un parasite du genre *Hepaticola*;

4° Dans le foie du lapin, en France, par Lebert;

5° Dans le foie d'un soldat anglais de l'armée des Indes par Dive, Lafrenais et Mac Arthur en 1924. Ces auteurs ont observé dans les coupes de foie humain qu'ils ont pratiquées des femelles adultes; ces pièces, préparées pour être débitées en coupes, étaient malheureusement insuffisantes pour faire une étude morphologique complète de ver; D., L. et M. rattachent, en raison de dimensions et de la localisation des œufs observés par eux le parasite qu'ils ont rencontré à *Hepaticola hepatica* (Bancroft, 1893).

Expérimentalement, Nishigori (1925) et Saito (1925) ont obtenu l'évolution complète de *H. hepatica* chez le chien et incomplète chez le lapin et le cobaye. Weidman (1925) a obtenu l'infestation du chien de prairies, *Cynomys ludovicianus*. On voit que les hépatiques observées dans le foie ont toutes été rattachées à l'espèce *Hepaticola hepatica* du rat.

Les œufs d'*Hepaticola*, observés pour la première fois par nous dans le foie de deux chimpanzés, sont moins allongés que ceux d'*H. hepatica*. Ainsi que l'indique le tableau I, les œufs

d'hépatiques du chimpanzé ont une longueur moyenne inférieure à celle des œufs d'hépatiques du rat.

Il est impossible cependant d'affirmer que la différence de taille constatée sur les œufs corresponde à des espèces distinctes, mais il est légitime de faire des réserves sur l'identité des hépatiques du rat et du chimpanzé, car nous savons que des œufs, morphologiquement identiques et ne différant entre eux que par une forme plus ou moins allongée, peuvent correspondre à deux espèces distinctes : *Ankylostomum duodenale* ($60\mu \times 40\mu$), *Necator Americanus* ($70\mu \times 40\mu$).

L'étude comparée des adultes d'hépatiques du rat et du chimpanzé est évidemment nécessaire pour résoudre cette question, mais nous inclinons à penser, malgré le contact alimentaire possible de chimpanzés captifs et de rats, que les deux espèces sont distinctes, et, pour des raisons d'ordre, nous proposons de désigner le parasite que nous avons étudié chez le chimpanzé sous le nom d'*Hépaticola anthropopithecii* n. sp.

ÉVOLUTION. MODE D'INFESTATION.

L'évolution des hépatiques contient encore quelques obscurités; on peut cependant la schématiser ainsi : l'infestation se fait par ingestion d'œufs mûrs expérimentalement; dans la nature il en est probablement de même. Les œufs arrivés dans l'intestin libèrent des larves qui traversent la muqueuse intestinale grâce à une dent céphalique, émigrent, probablement par la voie sanguine, et atteignent le foie une quinzaine de jours après l'inoculation. Ces larves paraissent achever leur développement dans le foie et vers le vingt-septième jour de l'inoculation on trouve dans cet organe de nombreux œufs et des femelles immatures. Quelque temps après la ponte, les adultes mourraient et seraient résorbés. Certains œufs peuvent eux-mêmes être envahis et résorbés par des cellules géantes, ainsi que nous l'avons déjà signalé.

Fülleborn signale la présence occasionnelle de larves dans les poumons et la rate, ce qui indique soit une possibilité d'évolution plus complexe, soit une aberrance de certaines larves.

La façon dont les œufs pondus dans le foie parviennent dans

le milieu extérieur pour assurer la perpétuité de l'espèce est incertaine. L'expulsion par les voies biliaires est improbable et certainement impossible pour un certain nombre d'œufs situés en plein parenchyme hépatique. Il est au contraire probable que les œufs sont ingérés en même temps que le foie des animaux infestés par des carnassiers occasionnels ou habituels (chien, rat, souris) ou par la souillure d'aliments par ces carnassiers occasionnels, ou encore par ingestion de poussières ou de particules résultant de la putréfaction du cadavre de l'hôte. Cette dernière éventualité est rendue très vraisemblable par ce que l'on sait de la résistance des œufs qui peuvent conserver leur embryon pendant deux ans et demi.

Dans le cas du chimpanzé, animal strictement végétarien, le mode d'infestation ne semble pas devoir être recherché dans un régime carnassier occasionnel, mais plutôt dans la souillure des aliments (racines par exemple) du chimpanzé par un animal omnivore. Rien jusqu'à présent ne permet de croire à l'intervention d'un hôte intermédiaire.

Expérimentalement on obtient l'infection du chien, du chien de prairie (*Cynomys ludovicianus*), du rat, du cobaye et du lapin en partant de foie de rat contenant des œufs d'*Hepaticola hepatica* mûrs. Les œufs extraits du foie exigent de vingt-cinq à vingt-huit jours pour arriver à maturité. Il est à noter que dans les infestations expérimentales du chien, du chien de prairie, du rat, du cobaye et du lapin en partant d'œufs d'*Hepaticola hepatica* du rat, l'évolution complète du parasite jusqu'au stade de la nouvelle ponte dans le foie de l'animal inoculé n'a été observée que chez le chien, le chien de prairie et le rat; chez le cobaye et chez le lapin l'évolution a été incomplète (aucune ponte d'œufs dans le foie); le chat est réfractaire.

ROLE PATHOGÈNE.

Chez le rat, les infestations expérimentales massives par voie digestive peuvent tuer l'animal en quatre à cinq jours, soit par action toxique, soit par apport bactérifère des larves.

En général, les rats infestés spontanément ne présentent qu'un degré léger de cirrhose hépatique: les paquets d'œufs paraissent assez bien tolérés. On note cependant parfois une

cirrhose hépatique considérable avec d'innombrables œufs pouvant entraîner la mort.

Récemment Beatti (1922) puis C. Bonne, viennent de décrire dans la région cardiaque de l'estomac du rat (*Mus decumanus*) des réactions néoplasiques, papillomateuses, sarcomateuses, épithéliomateuses, au contact des œufs et des adultes d'un *Hepaticola* que Baylis décrit comme une espèce nouvelle (*Hepaticola gastrica*). Beatti trouva des métastases du même type mais sans œufs dans les ganglions et dans le foie. Expérimentalement Fibiger et Wassink refusent toute action néoplasique aux *Hepaticola*, ne les acceptant que pour les *Gongylonema*.

Dans le cas humain unique de Dive, Lafrenais et Mac Arthur, il semble qu'il y ait eu infection secondaire bactérienne du foie infesté primitivement par un hépaticole; cette infection secondaire aurait déterminé des abcès hépatiques, puis une infection suppurative pulmonaire, et enfin des phénomènes septico-pyohémiques ayant entraîné la mort. Le rôle des vers paraît donc surtout ici bactérifère, la moindre résistance du tissu hépatique infesté ayant secondairement entraîné la pululation des microbes et la suppuration hépatique.

Chez les chimpanzés, il nous paraît certain que le rôle pathogène de l'hépaticole varie considérablement suivant le nombre des œufs pondus dans le parenchyme hépatique. Si quelques œufs seulement sont pondus par de rares femelles dans une zone limitée du foie, les parasites sont vite séparés du reste du foie par un tissu scléreux, dense, comme dans notre première observation. Au contraire, une infestation massive de parenchyme, et nous dirons même une infestation répétée comme le prouve dans notre deuxième cas les degrés divers d'altération des œufs, provoque la destruction d'une zone plus ou moins considérable du foie. Malgré la vive réaction giganto-cellulaire permettant la destruction progressive des œufs, la constitution d'une cirrhose intralobulaire est indiscutable avec ses conséquences nosologiques probables. On a le droit dès lors de parler de la cirrhose hépatique à *Hepaticola* et même de l'hépaticoliose chez le chimpanzé de l'Afrique Occidentale Française.

Suivant les modalités de l'infestation, suivant peut-être les

espèces animales infestées, les réactions morbides vis-à-vis des hépatiques peuvent donc être de type très divers. Tantôt tolérance parfaite du parasite et quasi exclusion du foie par du tissu fibreux, tantôt lésions destructives étendues avec infestation massive du parenchyme par les œufs et dilacération probable des tissus par les adultes; tantôt lésions amicrobiennes bien tolérées, tantôt lésions septico-pyohémiques par infection secondaire du foie et peut-être même réaction néoplasique des tissus, si les recherches récentes sont confirmées; telles sont les diverses éventualités réactionnelles que provoque la présence des œufs d'hépatiques dans le parenchyme hépatique.

CONCLUSIONS.

1° Il existe chez le chimpanzé une maladie causée par l'introduction dans l'organisme d'un nématode de la sous-famille des *Trichurinés* et du genre *Hepaticola*.

2° Ce ver, dont nous n'avons pu déceler de formes adultes, pond ses œufs dans le parenchyme hépatique.

3° Ces œufs ont une forme en tonnelet avec deux pores, situés à chaque pôle, présentant deux membranes, l'une externe, épaisse de 4 μ environ, striée radiairement, l'autre plus mince de 2 μ environ très acidophile; leur largeur (29 μ) est plus grande que celle des œufs de *Trichuris trichiura* qui n'ont que 20 μ .

4° Ces œufs ressemblent à ceux que l'on trouve dans le foie du rat, infesté par *Hepaticola hepatica* (Bancroft, 1893). Ils s'en distinguent néanmoins par une longueur moyenne moindre (51 μ 5 chez *Anthropopithecus troglodytes* L. 55 μ chez *Mus decumanus*), et nous proposons, par mesure d'ordre, de désigner l'hépatique du chimpanzé sous le nom de *Hepaticola anthropopithecii* n. sp.

5° Les lésions, provoquées dans le foie par la présence du ver et surtout de ses œufs, sont localisées au lobule hépatique lui-même. Les œufs sont pondus en plein parenchyme et ne paraissent pas essaimer par les voies biliaires.

6° L'organisme réagit par la production de cellules géantes qui entourent les œufs, pénètrent à leur intérieur par les pores, brisent leur double cuticule et finissent par les « digérer »

entièrement. Néanmoins on trouve de nombreux œufs complètement intacts avec ou sans réaction cellulaire de voisinage.

7° Parallèlement on constate la production de tissu scléreux créant une véritable cirrhose hépatique de voisinage.

8° Etant donné ce que l'on sait expérimentalement des conditions d'infestation du rat, on doit penser que nos chimpanzés se sont infestés dans la forêt équatoriale et même à l'Institut Pasteur de Kindia dans les conditions suivantes : des rats ayant dévoré du foie de cadavres de chimpanzés porteurs d'hépatocolas auraient souillé simultanément des aliments végétaux ultérieurement utilisés par le chimpanzé. On peut penser également que les particules résultant de la putréfaction des cadavres ont pu être ingérées directement ou indirectement par les anthropoïdes. La résistance prolongée des œufs d'hépatocolas, qui peut durer deux ans, autorise cette hypothèse.

9° Le rôle pathogène de l'hépatocola chez le chimpanzé varie suivant le nombre des œufs pondus dans le foie. Tantôt le parasite est parfaitement toléré et comme exclu de l'organisme dans une capsule fibreuse, tantôt les œufs pondus en quantités innombrables provoquent des lésions destructives du parenchyme hépatique avec des réactions inflammatoires diffuses.

BIBLIOGRAPHIE

- BALFOUR, Observations on wild rats in England. *Parasitology*, **14**, 1922, 3 II 4.
- BANCROFT, On the whip worm of the rat Liver. *Journ. and Proc. Roy. Soc. N. S. Wales*, **27**, 1893, p. 86, pl. 7 et 8.
- BAYLIS (H. A.), Some notes on nematodes Parasites found by Dr. Wassink in Rats and mice. *Journ. Trop. Med. and Hyg.*, **28**, fasc. 17, 1925, p. 316-317.
- BAYLIS (H. A.), A new species of Hepaticola. Nematoda from rat's stomach. *Journ. of Trop. Med. and Hyg.*, **29**, fasc. 15, 1926.
- BEATTI. *Zeitschrift f. Krebsforschung*, 1922, p. 207-325.
- BONNE (C.), Cancer of the stomach of the wild rat and infection with a nematode worm. Hepaticola gastrica, Baylis, 1925. *Journ. of Trop. Med. and Hyg.*, **29**, fasc. 16, 1926, p. 288-291, 12 fig.
- BRUMPT. *Précis de Parasitologie*, 1927, p. 814.
- DIVE (G. H.), LAFRENAIS (H. M.) et MAC ARTHUR (W. I.), A case of deposition of the eggs of hepaticola hepatica in the human liver with a note on the identity of the Eggs. *Journ. of the Roy. Army Med. Corps*, **43**, fasc. 1, 1924, p. 1 à 4, 2 pl., 9 ref.
- DUJARDIN. *Histoire naturelle des Helminthes ou vers intestinaux*, 1845, p. 23.

- FÜLLEBORN, Ueber die Entwicklung von trichocephalus im Wirt. *Arch. f. Schiffss. u. Trop. Hyg.*, **37**, fasc. 11, 1923, p. 413; Ueber die infektionsweg bei hepaticola hepatica. *Arch. f. Schiffss. u. Trop. Hyg.*, **28**, fasc. 2, p. 48.
- HALL, Nematodes parasites of mammals of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. *Proc. U. S. Nat. Mus.*, **4**, 1916, 1-258, pl. 1.
- LAGRANGE (E.), Sur un trichocephalidé du rat à Sanghaï (*hepaticola hepatica* Hall, 1916). *Bull. Soc. Path. Exot.*, **17**, fasc. 8, 1924, p. 658-659.
- LEIDY (J.), Notices of entozoa. *Proc. Acad. Nat. Sc.*, Philadelphie, **43**, fasc. 3, 1891, p. 410-418.
- LINSTOW (Von). *Arch. f. Naturg.*, **44**, n° 1, 1878, p. 232.
- MAC ARTHUR (W. I.), A case of infestation of human liver with hematicola hepatica Bancroft, 1893, Hall, 1916, with sections from the Liver. *Proc. Roy. Soc. Med.* (section Trop. Diseases and Parasit.), **17**, n° 10, 1924, p. 83-84.
- NICOLL (W.), On a unique pathological condition in a Hare. *Proc. zool. Soc. Londres*, 1914, P. T. 3, p. 674.
- NISHIGORI, On the Life history of hepaticola hepatica. Taiwan Igakkai Zasshi. *Journ. Med. Assoc. Formosa*, n° 247, octobre 1925, English summary, p. 3-4, 8 fig., 1 pl.
- RAILLET, Nematodes parasites des rongeurs. *Rec. Med. Vec.*, **92**, 1916, p. 517.
- SAITO MASAO, Development of hepaticola hepatica a supplementary report, Taiwan Igakkwai Zasshi. *Journ. Formosan Med. Assoc.*, n° 247, octobre 1925 (résumé in *Japon Med. World*, **6**, n° 6, 1926, p. 153-154).
- TRAVASSOS (L.), Contribucon para o contrecimento da fauna helmintologica Brasileira V. — Sobre as especies Brasileiras do genro *capillaria* Zedev, 1800. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, **7**, fasc. 2, 1915, p. 146-172, il. 23-26.
- WEIDMAN (F. D), Hepaticoliasis a frequent and sometimes fatal verminous infestation of the livers of rats and other redents. *Journ. Parasitology*, **12**, n° 1, septembre 1925, p. 19-25.

PLANCHE EN COULEURS (PLANCHE V).

A, Oeuf intact en plein lobule hépatique, sans réaction cellulaire ; B, C, D, E, F, G, phagocytose des œufs par des plasmodes multinucléés. Les cellules géantes entourent les œufs et pénètrent par les pores dans leur cavité (grossissement 700 diamètres) ; H, vaste cellule géante englobant 4 œufs à des stades variés de destruction. Cirrhose de voisinage (grossissement 600 diamètres).

Le Gérant : G. MASSON.

